

(19) 日本国特許庁 (J P)

## (12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2000-511893

(P2000-511893A)

(43) 公表日 平成12年9月12日 (2000.9.12)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 D 209/60		C 0 7 D 209/60	
A 6 1 P 35/00		A 6 1 K 31/00	6 3 5
A 6 1 K 31/404		31/40	6 0 7
31/407			6 0 9
31/4188		31/415	6 1 4
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 84 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願平9-542898  
 (86) (22) 出願日 平成9年5月22日 (1997.5.22)  
 (85) 翻訳文提出日 平成10年11月24日 (1998.11.24)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US97/09055  
 (87) 国際公開番号 WO97/44000  
 (87) 国際公開日 平成9年11月27日 (1997.11.27)  
 (31) 優先権主張番号 08/652, 883  
 (32) 優先日 平成8年5月23日 (1996.5.23)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 パノラマ リサーチ, インコーポレイテッド  
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94043,  
 マウンテン ビュウ, ワイアンドット ス  
 トリート 2462  
 (72) 発明者 ワン, ユイアン  
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94040,  
 マウンテン ビュウ, モンロー ドライブ  
 ナンバー17 278  
 (74) 代理人 弁理士 山本 秀策

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗ガン剤としてのDNA結合インドール誘導体、そのプロドラッグ、および免疫結合体

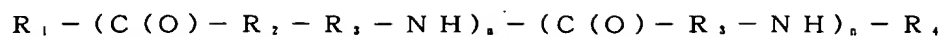
## (57) 【要約】

本発明は、新規なDNAアルキル化剤、抗腫瘍剤およびDNA標識剤として有用なこれらの薬剤のプロドラッグに関する。これらの化合物は、ヒドロキシジヒドロベンズインドールオリゴペプチド、およびそのプロドラッグであり、単量体の構成要素は、単環式または二環式ヘテロ環式芳香族残基から誘導される。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

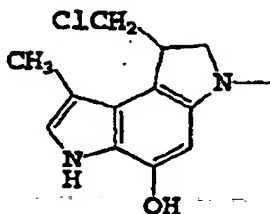
## 【特許請求の範囲】

1. 以下の式の化合物：

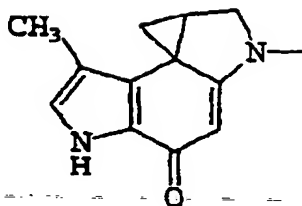


ここで：

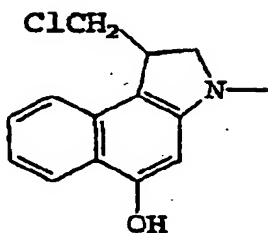
$R_1$  は、以下からなる群から選択される：



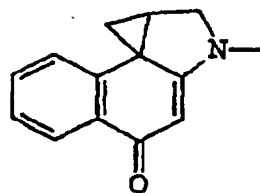
CPI-Cl



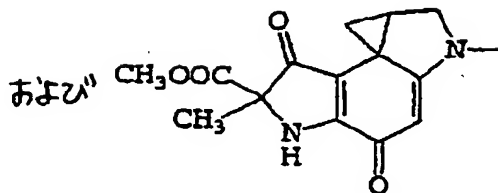
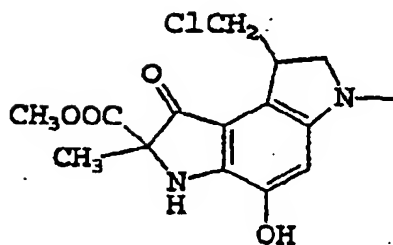
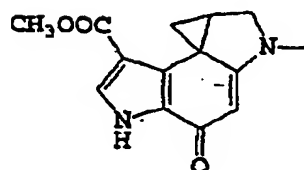
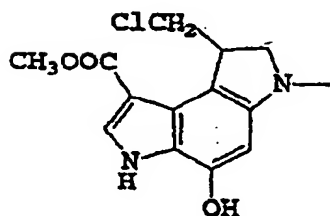
CPI



CBI-Cl



CBI



ここで、

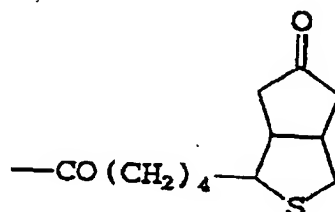
各  $R_2$  は、同じであるかまたは異なり、そして原子価結合であるかまたは2価ヒドロカルビル基である；

各  $R_3$  は、同じであるかまたは異なり、そして2価の単環式または二環式ベンゼン環式芳香族基である；

$m$  および  $n$  は 0 ～ 3 の整数であり、ここで、 $m + n$  は 3 以下である；そして

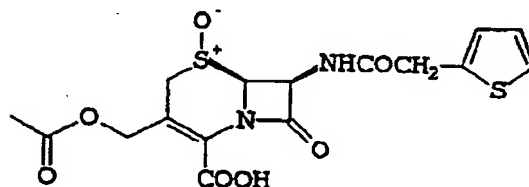
$R_4$  は、独立して以下である：

H； $C_1-C_6$  アルキル； $C_1-C_6$  ヒドロキシアルキル； $C_1-C_6$  ヒドロキシシクロアルキル；ヒドロキシフェニル；ヒドロキシメチルフェニル；ヒドロキシベンジル； $C_1-C_6$  アミノアルキル； $C_1-C_6$  アルキルアミノ  $C_1-C_6$  アルキル；ジ- $(C_1-C_6)$ -アルキルアミノ  $C_1-C_6$  アルキル； $C_1-C_6$  ウレイドアルキル；正に荷電した置換基を有するアルキル基；L-S、ここで、L は連結基であり、そして S は酵素に対する基質である；Z、ここで、Z は X または Y のいずれかであり、ここで、X は、式 I の構造であり、



(式 I)

そして Y は、式 II の構造である、

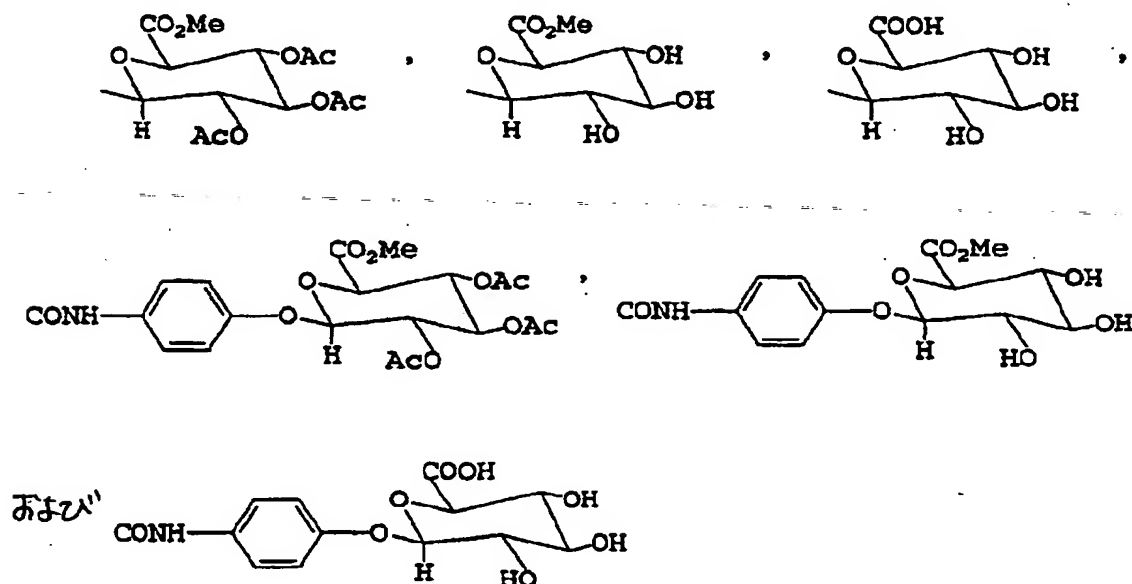


(式 II) ；

あるいは  $C(=O)R_5$  であり、ここで、 $R_5$  は独立して以下である：

$NH_2$ ； $C_1-C_6$  アルキル； $C_1-C_6$  ヒドロキシアルキル； $C_1-C_6$  ヒドロキシシクロアルキル；ヒドロキシフェニル；ヒドロキシメチルフェニル；ヒドロキシベンジル； $C_1-C_6$  アミノアルキル； $C_1-C_6$  アルキルアミノ  $C_1-C_6$  アルキル；ジ- $(C_1-C_6)$ -アルキルアミノ  $C_1-C_6$  アルキル； $C_1-C_6$  ウレイドアルキル；正に荷電した置換基を有す

る  $C_1-C_6$  アルキル基 ;  $C_1-C_6$  アルキル-NH $Z$  ;  $C_1-C_6$  シクロアルキル-NH $Z$  ; フェニル-NH $Z$  ; -CH $_2$ -フェニル-NH $Z$  ; -フェニル-CH $_2$ -NH $Z$  ; L-S、ここで、Lは連結基であり、そしてSは酵素に対する基質である ;  $C_1-C_6$  アルキル-OR $_6$  ;  $C_1-C_6$  シクロアルキル-OR $_6$  ; フェニル-OR $_6$  ; -CH $_2$ -フェニル-OR $_6$  ; または-フェニル-CH $_2$ -OR $_6$ 、ここで、R $_6$ は、以下からなる群から選択される :



ただし、R $_6$ がHもしくは $C_1-C_6$ アルキルである場合またはR $_6$ がNH $_2$ 、 $C_1-C_6$ アルキル、もしくは $C_1-C_6$ アミノアルキルである場合、R $_6$ のうちの1つがピロールもしくはイミダゾールであるとき、R $_6$ はCPIでもCPI-Clでもない ;

ただし、R $_6$ がHもしくは $C_1-C_6$ アルキルである場合またはR $_6$ がNH $_2$ もしくは $C_1-C_6$ アルキルである場合、以下の通りである :

(1)  $m+n$ が1であり、かつR $_6$ がキノリンもしくはインドールであるとき、R $_6$ はCPIでもCPI-Clでもない ;

(2)  $m+n$ が2であり、かつ両方のR $_6$ がインドールであるとき、R $_6$

は、CBIでもCBI-ClでもCPIでもCPI-Clでもない ;

ただし、R $_6$ がHもしくは $C_1-C_6$ アルキルである場合、以下の通りである :

(1)  $m+n$ が1であり、かつR $_6$ がインドールであるとき、R $_6$ はCBIでもCBI-Clでもない ;

- (2)  $m+n$  が 2 であり、かつ  $R_1$  のうちの 1 つがインドールもしくはベンゾフランであるとき、 $R_1$  は CPI でも CPI-CI でもない。
2.  $R_2$  が、原子価結合であるか、または、 $C_1-C_6$  アルキル、 $C_1-C_6$  アルケニル、 $C_1-C_6$  アルキニル、およびオルト-、メタ-もしくはパラ-結合した芳香族基からなる群から選択される 2 価ヒドロカルビル基である、請求項 1 に記載の化合物。
3.  $R_2$  が、 $CH_2$ 、 $CH_2CH_2$ 、 $CH=CH$  (トランスもしくはシス)、または  $-C\equiv C-$  である、請求項 2 に記載の化合物。
4.  $R_2$  が、インドール、置換インドール、ベンゾフラン、置換ベンゾフラン、ベンゾチオフェン、置換ベンゾチオフェン、ピロール、置換ピロール、イミダゾール、トリアゾール、ピラゾール、チアゾール、チオフェン、フラン、イソキサゾール、およびオキサゾールからなる群から選択される、請求項 1 に記載の化合物。
5.  $R_4$  が、独立して、 $C_1-C_6$  ヒドロキシアルキル、 $C_1-C_6$  ヒドロキシシクロアルキル、ヒドロキシフェニル、ヒドロキシメチルフェニル、またはヒドロキシベンジルである、請求項 1 に記載の化合物。
6.  $R_4$  が、独立して、 $C_1-C_6$  アミノアルキル、 $C_1-C_6$  アルキルアミノ  $C_1-C_6$  アルキル、ジ- $(C_1-C_6)$ -アルキルアミノ  $C_1-C_6$  アルキル、または  $C_1-C_6$  ウレイドアルキルである、請求項 1 に記載の化合物。
7.  $R_4$  が、アミジニウム基、グアナジニウム基、第 2 級、第 3 級もしくは第 4 級アンモニウム塩、スルホニウム基、またはホスホニウム基からなる群から選択される正に荷電した置換基を有するアルキル基である、請求項 1 に記載の化合物。
8.  $S$  が、 $\beta$ -グルクロニドおよび  $\beta$ -ラクタムからなる群から選択される酵素基質である、請求項 1 に記載の化合物。
9.  $R_4$  が  $Z$  である、請求項 1 に記載の化合物。
10.  $R_4$  が  $-C(0)-R_5$  であり、そして  $R_5$  が、 $C_1-C_6$  ヒドロキシアルキル、 $C_1-C_6$  ヒドロキシシクロアルキル、ヒドロキシフェニル、ヒドロキシメチルフェニル、およびヒドロキシベンジルからなる群から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

11.  $R_1$ が $-C(O)-R_2$ であり、そして $R_2$ が、 $C_1-C_6$ アミノアルキル、 $C_1-C_6$ アルキルアミノ、 $C_1-C_6$ アルキル、ジ- $(C_1-C_6)$ -アルキルアミノ、 $C_1-C_6$ アルキル、および $C_1-C_6$ ウレイドアルキルからなる群から選択される、請求項1に記載の化合物。

12.  $R_1$ が、 $\omega$ -アミノアルキル、 $\omega$ -アルキルアミノアルキル、 $\omega$ -ジアルキルアミノアルキル、または $\omega$ -ウレイドアルキルである、請求項11に記載の化合物。

13.  $R_1$ が $-C(O)-R_2$ であり、そして $R_2$ が、アミジニウム基、グアナジニウム基、第2級、第3級もしくは第4級アンモニウム塩、スルホニウム基、またはホスホニウム基からなる群から選択される正に荷電した置換基を有するアルキル基である、請求項1に記載の化合物。

14. 前記正に荷電した置換基が、前記アルキル基の末端炭素上にある、請求項13に記載の化合物。

15.  $R_1$ が $C(O)R_2$ であり、 $R_2$ がL-Sであり、そしてSが、 $\beta$ -グルクロニドおよび $\beta$ -ラクタムからなる群から選択される、請求項1に記載の化合物。

16.  $R_1$ が $-C(O)-R_2$ であり、そして $R_2$ が、 $C_1-C_6$ アルキル-NH $Z$ 、 $C_1-C_6$ シクロアルキル-NH $Z$ 、フェニル-NH $Z$ 、 $-CH_2$ -フェニル-NH $Z$ 、および $-CH_2$ -フェニル-NH $Z$ からなる群から選択される、請求項1に記載の化合物。

17. 前記NH $Z$ 基が $R_2$ の末端炭素上にある、請求項16に記載の化合物。

18.  $R_1$ が $-C(O)-R_2$ であり、そして $R_2$ が、 $C_1-C_6$ アルキル-OR $_3$ 、 $C_1-C_6$ シクロアルキル-OR $_3$ 、フェニル-OR $_3$ 、 $-CH_2$ -フェニル-OR $_3$ 、および $-CH_2$ -フェニル-OR $_3$ からなる群から選択される、請求項1に記載の化合物。

19. -OR $_3$ 置換基が $R_2$ の末端炭素原子上にある、請求項18に記載の化合物。

20.  $m$ が1であり； $R_2$ が、原子価結合、 $CH_2$ 、 $CH_2CH_2$ 、 $CH=CH$ （トランスもしくはシス）、または $-C\equiv C-$ からなる群から選択され；そして $R_3$ が、インドール、ベンゾフラン、ピロール、イミダゾール、およびフランからなる群から選択される、請求項1に記載の化合物。

21.  $R_1$ が $-C(O)-R_2$ であり、そして $R_2$ が、 $C_1-C_6$ ヒドロキシアルキル、 $C_1-C_6$ ヒドロキシシクロアルキル、ヒドロキシフェニル、ヒドロキシメチルフェニル、お

よびヒドロキシベンジルからなる群から選択される、請求項20に記載の化合物。

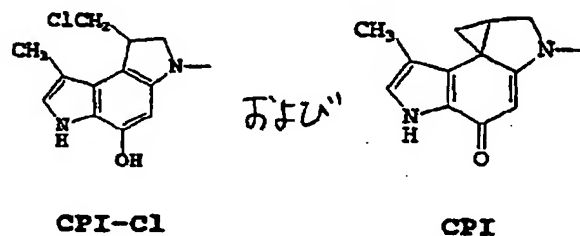
22.  $R_1$ が $-C(=O)-R_2$ であり、そして $R_2$ が、 $C_1-C_6$ アルキル-NH $Z$ 、 $C_1-C_6$ アルキル-NH $Z$ 、 $C_1-C_6$ シクロアルキル-NH $Z$ 、フェニル-NH $Z$ 、 $-CH_2$ -フェニル-NH $Z$ 、およびフェニル- $CH_2$ -NH $Z$ からなる群から選択される、請求項20に記載の化合物。

23. 前記NH $Z$ 基が $R_2$ の末端炭素上にある、請求項22に記載の化合物。

24.  $R_1$ が $-C(=O)-R_2$ であり、そして $R_2$ が、 $C_1-C_6$ アルキル-OR $_3$ 、 $C_1-C_6$ シクロアルキル-OR $_3$ 、フェニル-OR $_3$ 、 $-CH_2$ -フェニル-OR $_3$ 、およびフェニル- $CH_2$ -OR $_3$ からなる群から選択される、請求項20に記載の化合物。

25. -OR $_3$ 置換基が $R_2$ の末端炭素原子上にある、請求項24に記載の化合物。

26.  $R_1$ が、以下からなる群から選択され：



$R_1$ が $-C(=O)-R_2$ であり、そして $R_2$ が、 $C_1-C_6$ ヒドロキシアルキル、 $C_1-C_6$ ヒドロキシシクロアルキル、ヒドロキシフェニル、ヒドロキシメチルフェニル、ヒドロキシベンジル、 $C_1-C_6$ アルキル-NH $Z$ 、 $C_1-C_6$ アルキル-NH $Z$ 、 $C_1-C_6$ シクロアルキル-NH $Z$ 、フェニル-NH $Z$ 、 $-CH_2$ -フェニル-NH $Z$ 、 $-CH_2$ -フェニル-NH $Z$ 、 $-CH_2$ -フェニル-NH $Z$ 、 $C_1-C_6$ アルキル-OR $_3$ 、 $C_1-C_6$ シクロアルキル-OR $_3$ 、フェニル-OR $_3$ 、 $-CH_2$ -フェニル-OR $_3$ 、およびフェニル- $CH_2$ -OR $_3$ からなる群から選択される、請求項1に記載の化合物。

27.  $m$ が1であり、そして $R_2$ が、 $C_1-C_6$ アルキル、 $C_1-C_6$ アルケニル、 $C_1-C_6$ アルキニル、およびオルト-、メタ-もしくはパラ-結合した芳香族基からなる群から選択される2価ヒドロカルビル基である、請求項26に記載の化合物。

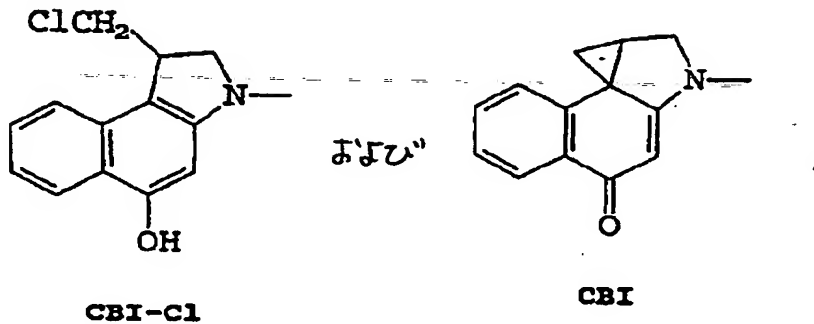
28.  $R_2$ が、 $C_1-C_6$ ヒドロキシアルキル、 $C_1-C_6$ ヒドロキシシクロアルキル、ヒドロキシフェニル、ヒドロキシメチルフェニル、またはヒドロキシベンジルである、請求項27に記載の化合物。



29.  $R_3$  が、 $C_1-C_6$  アルキル-NH $Z$ 、 $C_1-C_6$  シクロアルキル-NH $Z$ 、フェニル-NH $Z$ 、-CH $_2$ -フェニル-NH $Z$ 、または-フェニル-CH $_2$ -NH $Z$ である、請求項27に記載の化合物。

30.  $R_3$  が、 $C_1-C_6$  アルキル-OR $_6$ 、 $C_1-C_6$  シクロアルキル-OR $_6$ 、フェニル-OR $_6$ 、-CH $_2$ -フェニル-OR $_6$ 、または-フェニル-CH $_2$ -OR $_6$ である、請求項27に記載の化合物。

31.  $R_1$  が、以下からなる群から選択され：



$R_4$  が -C(O)- $R_5$  であり；そして

$R_5$  が、 $C_1-C_6$  ヒドロキシアルキル、 $C_1-C_6$  ヒドロキシシクロアルキル、ヒドロキシフェニル、ヒドロキシメチルフェニル、ヒドロキシベンジル、 $C_1-C_6$  アルキル-NH $Z$ 、 $C_1-C_6$  シクロアルキル-NH $Z$ 、フェニル-NH $Z$ 、-CH $_2$ -フェニル-NH $Z$ 、-フェニル-CH $_2$ -NH $Z$ 、 $C_1-C_6$  アルキル-OR $_6$ 、 $C_1-C_6$  シクロアルキル-OR $_6$ 、フェニル-OR $_6$ 、-CH $_2$ -フェニル-OR $_6$ 、および-フェニル-CH $_2$ -OR $_6$  からなる群から選択される、請求項1に記載の化合物。

32.  $m$  が1であり、そして $R_2$  が、 $C_1-C_6$  アルキル、 $C_1-C_6$  アルケニル、 $C_1-C_6$  アルキニル、およびオルト-、メタ-もしくはパラ-結合した芳香族基からなる群から選択される2価ヒドロカルビル基である、請求項31に記載の化合物。

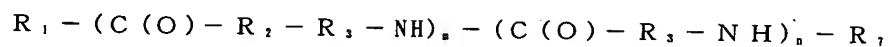
33.  $R_3$  が、 $C_1-C_6$  ヒドロキシアルキル、 $C_1-C_6$  ヒドロキシシクロアルキル、ヒドロキシフェニル、ヒドロキシメチルフェニル、またはヒドロキシベンジルである、請求項32に記載の化合物。

34.  $R_3$  が、 $C_1-C_6$  アルキル-NH $Z$ 、 $C_1-C_6$  アルキル-NH $Z$ 、 $C_1-C_6$  シクロアルキル-NH $Z$ 、フェニル-NH $Z$ 、-CH $_2$ -フェニル-NH $Z$ 、または-フェニル-CH $_2$ -NH $Z$ である、請求

項 2 7 に記載の化合物。

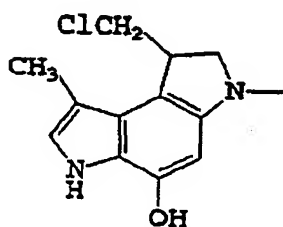
3 5 .  $R_6$  が、 $C_1-C_6$  アルキル- $OR_6$ 、 $C_1-C_6$  シクロアルキル- $OR_6$ 、フェニル- $OR_6$ 、 $-CH_2$ -フェニル- $OR_6$ 、または-フェニル- $CH_2$ - $OR_6$ である、請求項 2 7 に記載の化合物。

3 6 . 以下の式の化合物：

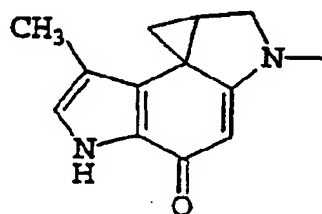


ここで：

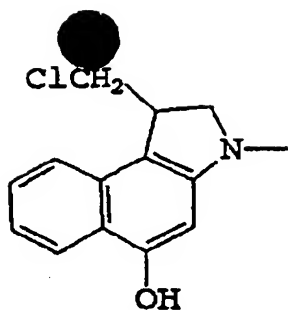
$R_1$  は、以下からなる群から選択される：



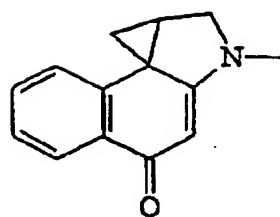
**CPI-Cl**



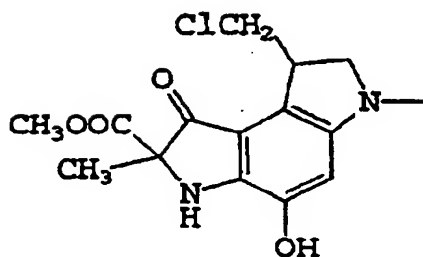
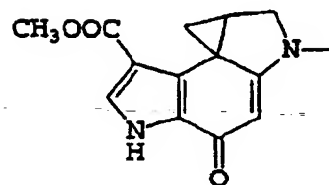
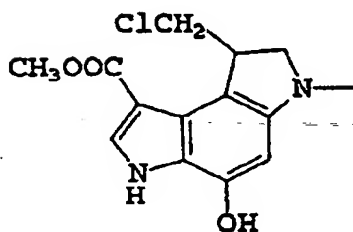
**CPI**



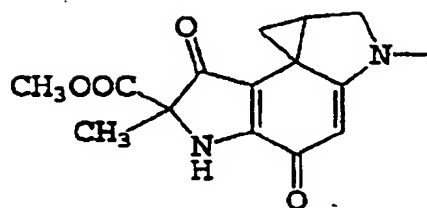
CBI-Cl



CBI



および



ここで、

各  $R_1$  は、同じであるかまたは異なり、そして原子価結合であるかまたは 2 価ヒドロカルビル基である；

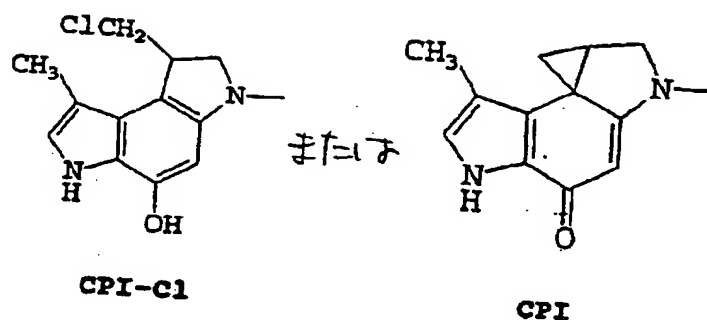
各  $R_2$  は、同じであるかまたは異なり、そして 2 価の単環式または二環式ヘテロ環式芳香族基である；

$m$  および  $n$  は 0 ～ 3 の整数であり、ここで、 $m + n$  は 3 以下である；そして

$R_3$  は、-リンカー-抗体であり；

ただし、 $R_1$  が CBI または CBI-Cl であり、 $R_2$  が原子価結合であり、そして  $m + n$  が 2 である場合、 $R_3$  の両方がインドールであるわけではない。

37.  $R_1$  が、



である、請求項36に記載の化合物。

38.  $m$ が1であり、そして $R_2$ が、 $C_1-C_6$ アルキル、 $C_1-C_6$ アルケニル、 $C_1-C_6$ アルキニル、およびオルト-、メタ-もしくはパラ-結合した芳香族基からなる群から選択される2価ヒドロカルビル基である、請求項37に記載の化合物。

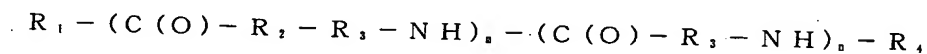
39. 前記リンカーが、 $C(O)-(CH_2)_x-S-S-(CH_2)_y-C(O)-$ であり、そして $x$ および $y$ が1~4の整数である、請求項38に記載の化合物。

40. 前記抗体がモノクローナル抗体である、請求項36に記載の化合物。

41. 前記抗体が哺乳動物の腫瘍に対するものである、請求項36に記載の化合物。

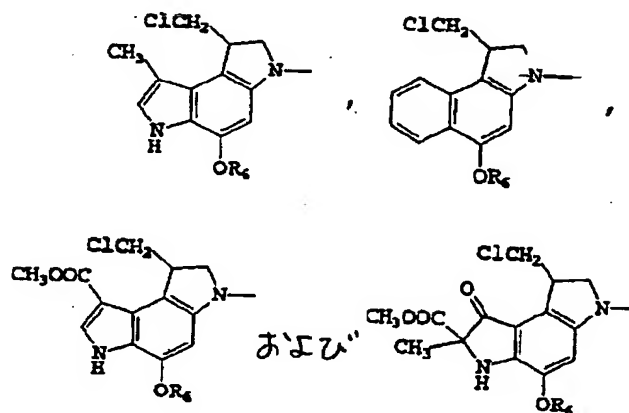
42. 前記腫瘍が固形腫瘍である、請求項36に記載の化合物。

43. 以下の式の化合物：



ここで：

$R_1$ は、以下からなる群から選択される：



ここで、

各  $R_1$  は、同じであるかまたは異なり、そして原子価結合であるかまたは2価ヒドロカルビル基である；

各  $R_2$  は、同じであるかまたは異なり、そして2価の単環式または二環式ヘテロ環式芳香族基である；

$m$  および  $n$  は0～3の整数であり、ここで、 $m+n$  は3以下である；そして

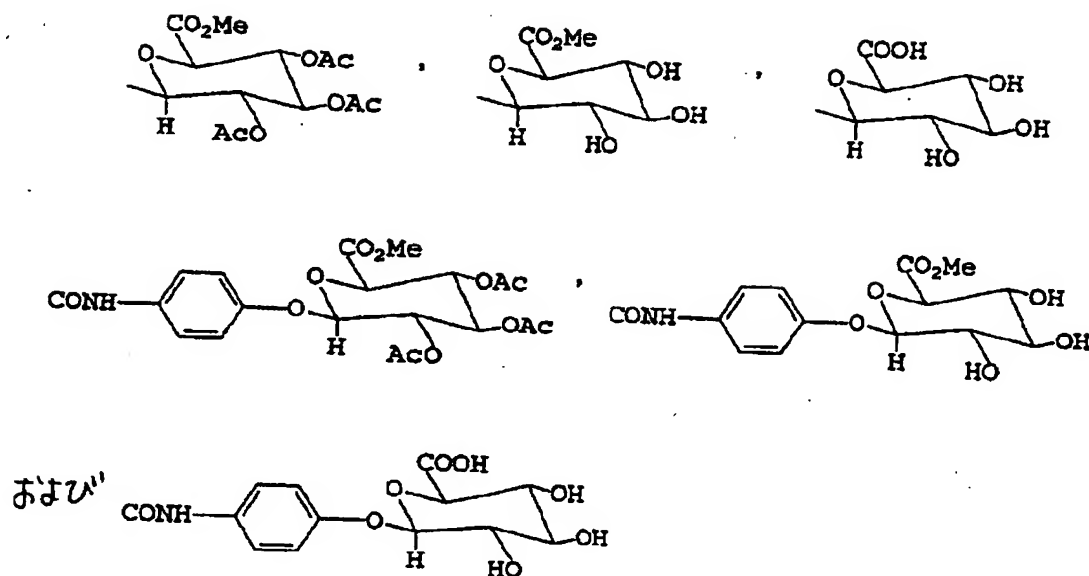
$R_3$  は、独立して以下である：

H； $C_1-C_6$  アルキル； $C_1-C_6$  ヒドロキシアルキル； $C_1-C_6$  ヒドロキシシクロアルキル；ヒドロキシフェニル；ヒドロキシメチルフェニル；ヒドロキシベンジル； $C_1-C_6$  アミノアルキル； $C_1-C_6$  アルキルアミノ  $C_1-C_6$  アルキル；ジ- $(C_1-C_6)$ -アルキルアミノ  $C_1-C_6$  アルキル； $C_1-C_6$  ウレイドアルキル；正に荷電した置換基を有するアルキル基；または  $C(0)R_4$  であり、ここで、 $R_4$  は独立して以下である：

$NH_2$ ； $C_1-C_6$  アルキル； $C_1-C_6$  ヒドロキシアルキル； $C_1-C_6$  ヒドロキシシクロアルキル；ヒドロキシフェニル；ヒドロキシメチルフェニル；ヒドロキシベンジ

ル； $C_1-C_6$  アミノアルキル； $C_1-C_6$  アルキルアミノ  $C_1-C_6$  アルキル；ジ- $(C_1-C_6)$ -アルキルアミノ  $C_1-C_6$  アルキル； $C_1-C_6$  ウレイドアルキル、または正に荷電した置換基を有する  $C_1-C_6$  アルキル基；そして

$R_4$  は、以下からなる群から選択される：



44.  $R_2$ が、原子価結合であるか、または、 $C_1-C_6$ アルキル、 $C_1-C_6$ アルケニル、 $C_1-C_6$ アルキニル、およびオルト-、メタ-もしくはパラ-結合した芳香族基からなる群から選択される2価ヒドロカルビル基である、請求項43に記載の化合物。

45.  $R_2$ が、 $CH_2$ 、 $CH_2CH_2$ 、 $CH=CH$ （トランスもしくはシス）、または $-C\equiv C-$ である、請求項44に記載の化合物。

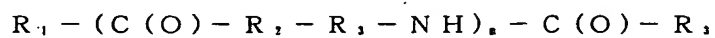
46.  $R_3$ が、インドール、置換インドール、ベンゾフラン、置換ベンゾフラン、ベンゾチオフェン、置換ベンゾチオフェン、ピロール、置換ピロール、イミダゾール、トリアゾール、ピラゾール、チアゾール、チオフェン、フラン、イソキサゾール、およびオキサゾールからなる群から選択される、請求項43に記載の化合物。

47.  $R_4$ が、独立して、 $C_1-C_6$ ヒドロキシアルキル、 $C_1-C_6$ ヒドロキシシクロアルキル、ヒドロキシフェニル、ヒドロキシメチルフェニル、またはヒドロキシベンジルである、請求項43に記載の化合物。

48.  $R_4$ が、独立して、 $C_1-C_6$ アミノアルキル、 $C_1-C_6$ アルキルアミノ、 $C_1-C_6$ アルキルジ- $(C_1-C_6)$ -アルキルアミノ、または $C_1-C_6$ ウレイドアルキルである、請求項43に記載の化合物。

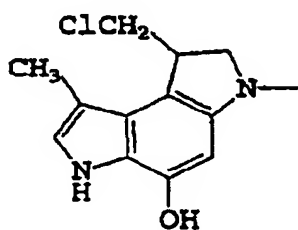
49.  $R_1$ が、アミジニウム基、グアナジニウム基、第2級、第3級もしくは第4級アンモニウム塩、スルホニウム基、またはホスホニウム基からなる群から選択される正に荷電した置換基を有するアルキル基である、請求項43に記載の化合物。

50. 以下の式の化合物：

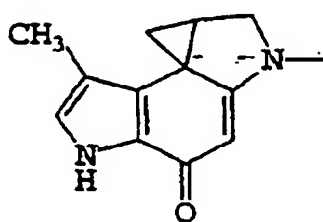


ここで：

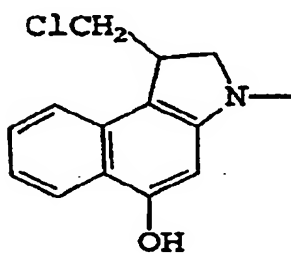
$R_1$ は、以下からなる群から選択される：



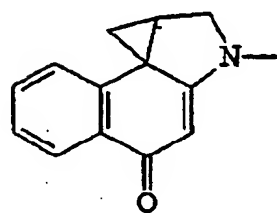
**CPI-Cl**



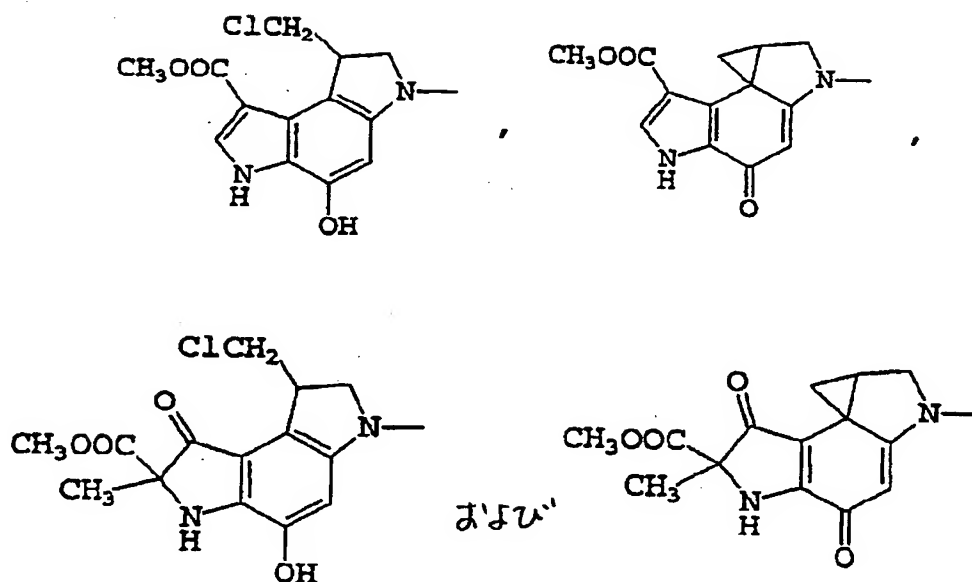
**CPI**



**CBI-Cl**



**CBI**



ここで、

各  $R_2$  は、同じであるかまたは異なり、そして原子価結合であるかまたは 2 価ヒドロカルビル基である；

各  $R_3$  は、同じであるかまたは異なり、そして 2 価の単環式または二環式ヘテロ環式芳香族基である；

$m$  および  $n$  は 0 ～ 3 の整数である；

ただし、 $R_3$  のうちの 1 つがピロールもしくはイミダゾールである場合、 $R_1$  は CPI でも CPI-Cl でもない。

51.  $R_2$  が、原子価結合であるか、または、 $C_1-C_6$  アルキル、 $C_1-C_6$  アルケニル、 $C_1-C_6$  アルキニル、およびオルト-、メタ-もしくはパラ-結合した芳香族基からなる群から選択される 2 価ヒドロカルビル基である、請求項 50 に記載の化合物。

52.  $R_2$  が、 $CH_2$ 、 $CH_2CH_2$ 、 $CH=CH$  (トランスもしくはシス)、または  $-C\equiv C-$  である、請求項 51 に記載の化合物。

53.  $R_3$  が、インドール、置換インドール、ベンゾフラン、置換ベンゾフラン、ベンゾチオフェン、置換ベンゾチオフェン、ピロール、置換ピロール、イミダゾール、トリアゾール、ピラゾール、チアゾール、チオフェン、フラン、イソキ



サゾール、およびオキサゾールからなる群から選択される、請求項50に記載の化合物。

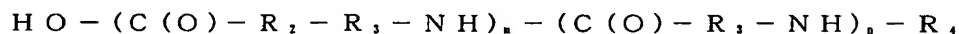
54. 患者の腫瘍の増殖を制御する方法であって、有効量の請求項1に記載の化合物および薬学的に受容可能な賦形剤を該患者に投与する工程を包含する、方法。

55. 患者の細菌媒介性疾患を処置する方法であって、有効量の請求項1に記載の化合物および薬学的に受容可能な賦形剤を該患者に投与する工程を包含する、方法。

56. インビボで特定のDNA配列をアルキル化する方法であって、有効量の請求項1に記載の化合物を該アルキル化を必要とする患者に投与する工程を包含する、方法。

57. 式  $R_1 - (C(O) - R_2 - R_3 - NH)_m - (C(O) - R_3 - NH)_n - R_4$  の化合物を作製する方法であって、以下の工程を包含する、方法：

(a) カルボキシル基活性化試薬を用いて、以下の式のカルボン酸を活性化する工程：



ここで：

各  $R_2$  は、同じであるかまたは異なり、そして原子価結合であるかまたは2価ヒドロカルビル基である；

各  $R_3$  は、同じであるかまたは異なり、そして2価の単環式または二環式ヘテロ環式芳香族基である；

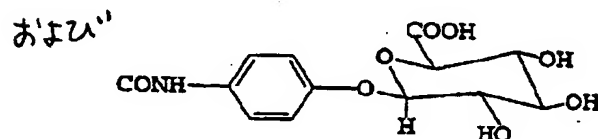
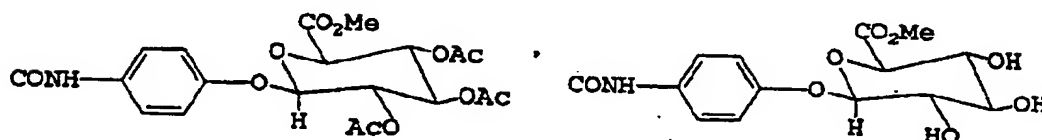
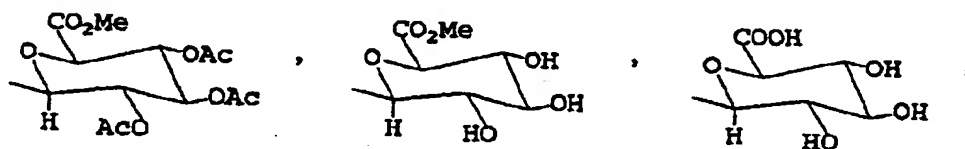
$m$  および  $n$  は 0 ～ 3 の整数であり、ここで、 $m + n$  は 3 以下である；そして

$R_4$  は、独立して以下である：

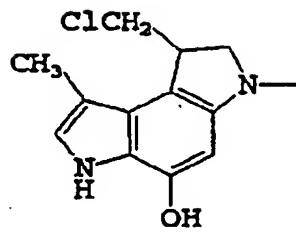
H； $C_1 - C_6$  アルキル； $C_1 - C_6$  ヒドロキシアルキル； $C_1 - C_6$  ヒドロキシシクロアルキル；ヒドロキシフェニル；ヒドロキシメチルフェニル；ヒドロキシベンジル； $C_1 - C_6$  アミノアルキル； $C_1 - C_6$  アルキルアミノ  $C_1 - C_6$  アルキル；ジ- $(C_1 - C_6)$ -アルキルアミノ  $C_1 - C_6$  アルキル； $C_1 - C_6$  ウレイドアルキル；正に荷電した置換基を有するアルキル基；または  $C(O)R_5$  であり、ここで、 $R_5$  は独立して以下である：

$\text{NH}_2$ ;  $\text{C}_1\text{-C}_6$ アルキル;  $\text{C}_1\text{-C}_6$ ヒドロキシアルキル;  $\text{C}_1\text{-C}_6$ ヒドロキシシクロアルキル; ヒドロキシフェニル; ヒドロキシメチルフェニル; ヒドロキシベンジル;  $\text{C}_1\text{-C}_6$ アミノアルキル;  $\text{C}_1\text{-C}_6$ アルキルアミノ  $\text{C}_1\text{-C}_6$ アルキル; ジ-( $\text{C}_1\text{-C}_6$ )-アルキルアミノ  $\text{C}_1\text{-C}_6$ アルキル;  $\text{C}_1\text{-C}_6$ ウレイドアルキル; 正に荷電した置換基を有する  $\text{C}_1\text{-C}_6$ アルキル基;  $\text{C}_1\text{-C}_6$ アルキル- $\text{OR}_6$ ;  $\text{C}_1\text{-C}_6$ シクロアルキル- $\text{OR}_6$ ; フェニル- $\text{OR}_6$ ;  $-\text{CH}_2\text{-フェニル-OR}_6$ ; または  $-\text{フェニル-CH}_2\text{-OR}_6$ 、ここで:

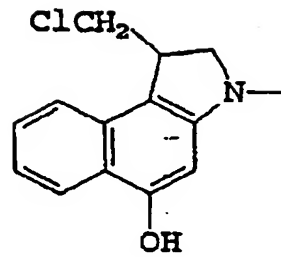
$\text{R}_6$ は、以下からなる群から選択される:



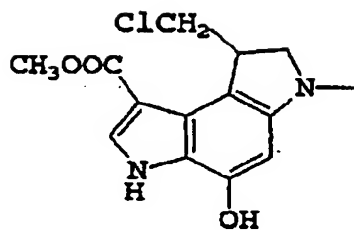
(b) 該活性化された酸を式 $\text{R}_1\text{-H}$ のアミンと反応させる工程であって、ここで、 $\text{R}_1$ が、以下からなる群から選択される、工程:



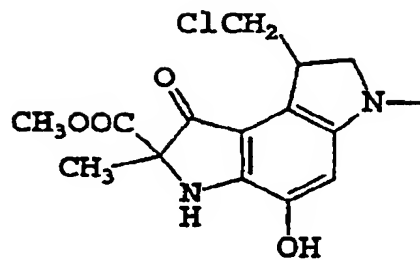
CPI-Cl



CBI-Cl



および



ただし、 $R_1$ がHもしくは $C_1-C_6$ アルキルである場合または $R_2$ が $NH_2$ 、 $C_1-C_6$ アルキル、もしくは $C_1-C_6$ アミノアルキルである場合、 $R_3$ のうちの1つがピロールもしくはイミダゾールであるとき、 $R_1$ はCPI-Clではない；

ただし、 $R_1$ がHもしくは $C_1-C_6$ アルキルである場合または $R_2$ が $NH_2$ もしくは $C_1-C_6$ アルキルである場合、以下の通りである：

(1)  $m+n$ が1であり、かつ $R_3$ がキノリンもしくはインドールであるとき、 $R_1$ はCPI-Clではない；

(2)  $m+n$ が2であり、かつ両方の $R_3$ がインドールであるとき、 $R_1$ は、CBI-ClでもCPI-Clでもない；

ただし、 $R_1$ がHもしくは $C_1-C_6$ アルキルである場合、以下の通りである：

(1)  $m+n$ が1であり、かつ $R_3$ がインドールであるとき、 $R_1$ はCBI-Clではない；

(2)  $m+n$ が2であり、かつ $R_3$ のうちの1つがインドールもしくはベンゾフランであるとき、 $R_1$ はCPI-Clではない；

- ( c ) 必要に応じて、工程 ( b ) の生成物を塩基と反応させる工程 ; および
- ( d ) 所望の化合物を単離する工程。

58. 薬学的に受容可能な無毒性の賦形剤と、治療有効量の請求項1に記載の化合物またはその薬学的に受容可能な塩とを含む、薬学的組成物。

59. 薬学的に受容可能な無毒性の賦形剤と、治療有効量の請求項18に記載の化合物またはその薬学的に受容可能な塩とを含む、薬学的組成物。

60. 薬学的に受容可能な無毒性の賦形剤と、治療有効量の請求項43に記載の化合物またはその薬学的に受容可能な塩とを含む、薬学的組成物。

## 【発明の詳細な説明】

抗ガン剤としてのDNA結合インドール誘導体、

そのプロドラッグ、および免疫結合体

## 発明の背景

本発明は、抗腫瘍剤およびDNA標識薬剤として有用な新規のDNAアルキル化剤およびこれらの薬剤のプロドラッグに関する。

CC-1065 (図1) は、1981年に *Streptomyces zelensis* から、最初に Upjohn Company (Hankaら、*J. Antibiot.* (1978) 31:1211; Martinら、*J. Antibiot.* (1980) 33:902; Martinら、*J. Antibiot.* (1981) 34:1119) によって単離され、そしてインビトロおよび実験動物の両方において、強力な抗腫瘍および抗菌活性を有することが見出された (Liら、*Cancer Res.* (1982) 42:999; Martinら (1981))。C-1065は、副溝内で二重鎖B-DNAに (配列 5'-d(A/GNTTA)-3' および 5'-d(AAAAA)-3' に好んで) 結合し (Swensonら、*Cancer Res.* (1982) 42:2821)、そして分子内に存在するそのCPI左手単位によって3' アデニンのN3位をアルキル化する (Hurleyら、*Science* (1984) 226:843)。その強力で広範な抗腫瘍活性にもかかわらず、C-1065は、ヒトにおいて使用され得ない。なぜなら、それは実験動物において遅延した死を引き起こすからである。

多くのCC-1065アナログが合成されている。これらの合成アナログのいくつかは、U-73975 (図1、アドゼレシン (adozelesin)、Aristof, *Adv. Med. Chem.* (1993) 2:67); U-77779 (ビゼレシン (bizelesin)、Aristoff (1993)); U-80244 (図1、カーゼレシン (carzelesin)、Aristoff, (1993)); KW-2189 (Ogasawaraら、*Jpn. J. Cancer Res.* (1994) 85:418); YW-052, YW-053, (図1、WangおよびLown, *Book of Abstracts-209th Amer. Chem. Soc. National Meeting* (1995)); CBI-CDP I, および CBI-CDPI, (BogerおよびJohnson, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (1995) 92:3642) である。U-73975、U-77779、およびU-80244は、合衆国において臨床試験中であり (Aristoff, 1993)、そしてKW 2189は、日本において臨床試験中である (Niitaniら、*Proceeding. Amer. Asso. Cancer Res.* (1995) 243)。

モノクローナル抗体結合体、DCI (図3、Chari, R. V. J.ら、*Cancer Res.*, (1

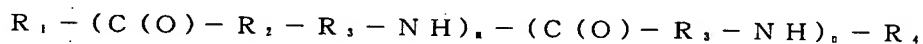
995) 55:4079) が最近報告されている。

別のクラスの関連の化合物には、ネトロプシン(netropsin)(Julia, M.ら、Aca d. Sci. (1963)257:1115)およびジスタマイシン(distamycin)(Arcamone, F.M.ら、Gazz. Chim. Ital. (1967)97:1097)が含まれる。これらの構造は、図2に示される。両方の化合物が、正に荷電している。これらの化合物は、それらの低治療効力のために抗腫瘍剤として使用されない。このクラスの化合物の合成アナログであるFCE24517(図2、Arcamone, F.M.ら、J. Med. Chem. (1989) 32:774)が報告された。FCE24517は、安息香酸ナイトロジェンマスタードおよびオリゴピロールの結合体であり、そして現在臨床試験中である。

現在使用されている抗腫瘍薬物の制限は、正常組織に対する癌性細胞への選択性のなさである。正常組織に対して癌性細胞に選択的である強力な化合物を提供することが所望である。DNAを選択的に標識する標識薬剤を提供することはまた有用である。本発明は、これらおよび関連の必要性を満たす。

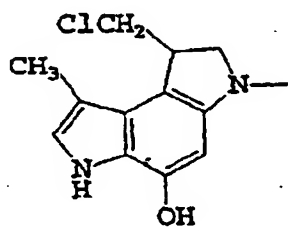
#### 発明の要旨

本発明は、以下の式の化合物を提供する：

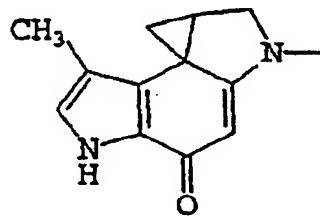


ここで：

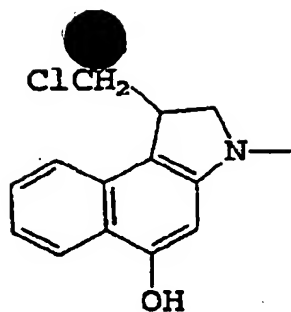
$R_1$  は、以下からなる群から選択される：



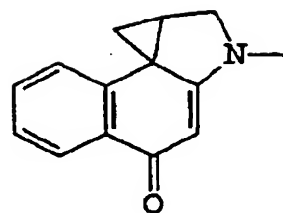
CPI-Cl



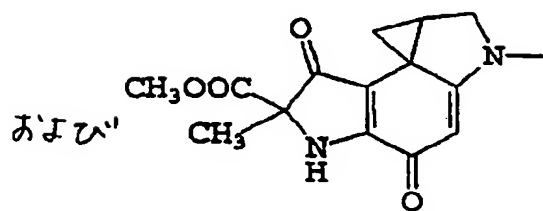
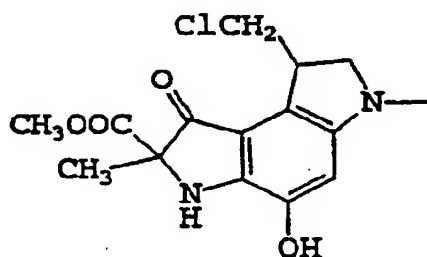
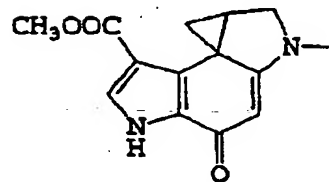
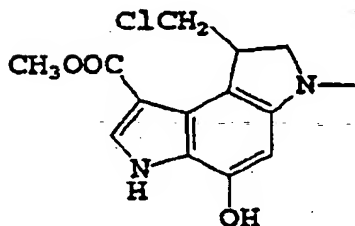
CPI



CBI-Cl



CBI



あゝゝゝ

ここで：

各  $R_2$  は、同じであるかまたは異なり、そして原子価結合であるかまたは 2 価ヒドロカルビル基である；

各  $R_3$  は、同じであるかまたは異なり、そして 2 価の単環式または二環式ヘテロ環式芳香族基である；

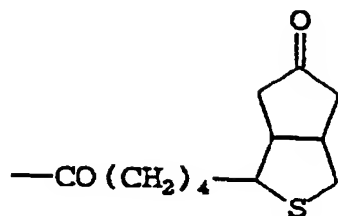
$m$  および  $n$  は 0 ～ 3 の整数であり、ここで、 $m + n$  は 3 以下である；そして

$R_4$  は、独立して以下である：

H； $C_1 - C_6$  アルキル； $C_1 - C_6$  ヒドロキシアルキル； $C_1 - C_6$  ヒドロキシシクロアルキル；ヒドロキシフェニル；ヒドロキシメチルフェニル；ヒドロキシベンジ

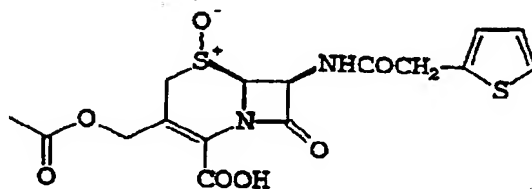
ル； $C_1 - C_6$  アミノアルキル； $C_1 - C_6$  アルキルアミノ  $C_1 - C_6$  アルキル；ジ- $(C_1 - C_6)$ -アルキルアミノ  $C_1 - C_6$  アルキル； $C_1 - C_6$  ウレイドアルキル；正に荷電した置換基を有

するアルキル基；Z、ここで、ZはXまたはYのいずれかであり、ここで、Xは、式Iの構造であり、



(式I)

そしてYは、式IIの構造である、

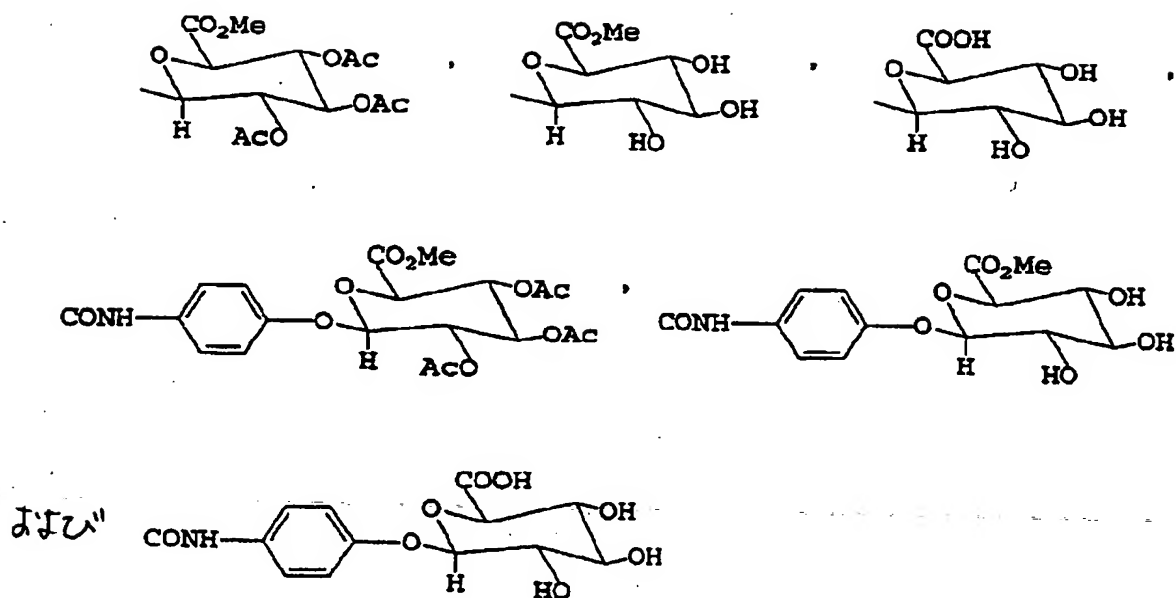


(式II) ;

あるいはC(O)R<sub>5</sub>であり、ここで、R<sub>5</sub>は独立して以下である：

NH<sub>2</sub>；C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル；C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>ヒドロキシアルキル；C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>ヒドロキシシクロアルキル；ヒドロキシフェニル；ヒドロキシメチルフェニル；ヒドロキシベンジル；C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アミノアルキル；C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルアミノC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル；ジ-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-アルキルアミノC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル；C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>ウレイドアルキル；正に荷電した置換基を有するC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル基；C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル-NHZ；C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>シクロアルキル-NHZ；フェニル-NHZ；-CH<sub>2</sub>-フェニル-NHZ；-フェニル-CH<sub>2</sub>-NHZ；L-S、ここで、Lは連結基であり、そしてSは酵素に対する基質である；C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル-OR<sub>6</sub>；C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>シクロアルキル-OR<sub>6</sub>；フェニル-OR<sub>6</sub>；-CH<sub>2</sub>-フェニル-OR<sub>6</sub>；または-フェニル-CH<sub>2</sub>-OR<sub>6</sub>、ここで、R<sub>6</sub>は、以下からなる群から選択される：





ただし、 $R_1$ がHもしくは $C_1-C_6$ アルキルである場合または $R_1$ が $NH_2$ 、 $C_1-C_6$ アルキル、もしくは $C_1-C_6$ アミノアルキルである場合、 $R_2$ のうちの1つ以上がピロールもしくはイミダゾールであるとき、 $R_1$ はCPIでもCPI-Clでもない；ただし、 $R_1$ がHもしくは $C_1-C_6$ アルキルである場合または $R_1$ が $NH_2$ もしくは $C_1-C_6$ アルキルである場合、以下の通りである：

(1)  $m+n$ が1であり、かつ $R_2$ がキノリンもしくはインドールであるとき、 $R_1$ はCPIでもCPI-Clでもない；

(2)  $m+n$ が2であり、かつ両方の $R_2$ がインドールであるとき、 $R_1$ は、CBIでもCBI-ClでもCPIでもCPI-Clでもない；

ただし、 $R_1$ がHもしくは $C_1-C_6$ アルキルである場合、以下の通りである：

(1)  $m+n$ が1であり、かつ $R_2$ がインドールであるとき、 $R_1$ はCBIでもCBI-Clでもない；

(2)  $m+n$ が2であり、かつ $R_2$ のうちの1つがインドールもしくはベンゾフランであるとき、 $R_1$ はCPIでもCPI-Clでもない。

本発明はまた、上記化合物に関連するプロドラッグ、特に、本発明の化合物が酵素基質および抗体に結合しているプロドラッグを提供する。本発明はまた、本

明細書中に開示される化合物を用いる、腫瘍の増殖を阻害する方法を提供する。

さらに、本明細書中に開示される化合物およびそれらの誘導体は、DNAのアルキル化およびDNAの標識に有用であり、これにより、DNAの検出、精製および単離の手助けをする。

#### 図面の簡単な説明

図1は、CC-1065、アドゼレシン、YW-052、YW-053、U-80244、CBI-CDPI<sub>1</sub>、CBI-CDPI<sub>2</sub>、KW-2189およびU-77779の構造を示す。

図2は、ネトロブシン、ジスタマイシンおよびFCE24517の構造を示す。

図3は、DCIおよびそのモノクローナル抗体共役体の構造を示す。

図4は、ナイトロジェンマスタードグルクロニドおよびドキソルビシンβ-ラクタムのプロドラッグの構造を示す。

図5は、グルクロニドプロドラッグの活性化のメカニズムを示す。

図6は、β-ラクタムプロドラッグの活性化のメカニズムを示す。

図7は、本明細書で報告される本発明のCC-1065アナログおよびこれらのプロドラッグを構築するために使用されるインドール誘導体の合成の経路を示す。

図8は、CC-1065アナログおよびこれらのプロドラッグの合成の経路を示す。

図9は、本発明の化合物のインビトロにおけるU937細胞に対するIC<sub>50</sub>値を示す。

図10は、セファムプロドラッグYW-285の合成の経路を示す。

図11は、YW-242モノクローナル抗体共役体の合成の経路を示す。

#### 好適な実施態様の記述

以下の定義は、本明細書で本発明を記述するために用いられる様々な用語の意味および範囲を説明および定義するために述べられる。

用語「ヒドロカルビル」は、水素および他の元素が付く炭素鎖よりなる有機基を意味する。この用語は、アルキル、アルケニル、アルキニルおよびアリール基

、飽和および不飽和結合、炭素環式環の混合物を有する基を含み、そしてこのような基の組み合わせを含む。これは直鎖、分岐鎖、環構造またはこれらの組み合わせを意味し得る。

用語「アルキル」は、1～20個の炭素原子よりなる分岐または直鎖の非環式単価飽和炭化水素基を意味する。

用語「低級アルキル」は、1～6個の炭素原子よりなるアルキル基を意味する。この用語の例としてはさらに、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、イソブチル、sec-ブチル、n-ブチルおよびtert-ブチル、n-ヘキシルおよび3-メチルペンチルなどの基がある。

用語「アルケニル」は、少なくとも1つの炭素-炭素二重結合を含み、直鎖、分岐鎖および環式基を含む不飽和炭化水素基を意味する。

用語「アリキニル」は、少なくとも1つの炭素-炭素三重結合を含み、直鎖、分岐鎖および環状基を含む不飽和炭化水素基を意味する。

有機基または化合物それぞれに関連して本明細書で用いられる用語「低級」は、6個を含む6個までの、好ましくは4個を含む4個までの炭素原子を有する基または化合物であると定義される。このような基は直鎖または分岐鎖であり得る。

用語「アリアル」は、単一の環（例えば、フェニル）または多数の縮合環（例えば、ナフチル）を有する芳香族炭素環式基を意味する。

用語「複素環式芳香族」は、環内に少なくとも1つのヘテロ原子、例えば窒素、酸素または硫黄、を有する芳香族単環式または多環式基を意味する。例えば、1つ以上の窒素原子を有する典型的なヘテロアリアル基としては、テトラゾイル、ピロリル、ピリジル（例えば、4-ピリジル、3-ピリジル、2-ピリジル）、ピリダジニル、インドリル、キノリル（例えば、2-キノリル、3-キノリルなど）、イミダゾリル、イソキノリル、ピラゾリル、ピラジニル、ピリミジニル、ピリドニルまたはピリダジノニルである；酸素原子を有する典型的な酸素ヘテロアリアル基としては、2-フリル、3-フリルまたはベンゾフラニルである；典型的な硫黄ヘテロアリアル基としては、チエニルおよびベンゾチエニルである；典型的な混合ヘテロ原子ヘテロアリアル基としては、フラザニル、オキサゾリ

ル、

イソキサゾリル、チアゾリルおよびフェノチアジニルである。さらに、この用語はまた、環内のヘテロ原子が酸化されて、例えばN-オキシドまたはスルホンを形成する事例をも含む。

用語「ウレイド」は、 $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-\text{NH}_2$ 基を意味する。

用語「リンカー」は、本発明の化合物を抗体または酵素基質に結合するように働き得る化学的および生物学的に適合可能な二価の原子集合を意味する。一般には、好適な結合基は、0～20個の炭素、好ましくは0～8個の炭素、より好ましくは、0～3個の炭素、および／または0～10個のヘテロ原子（NH、O、S、Pなど）を有し、分岐鎖または直鎖であるか、もしくは環を含み得る。結合は疎水性または親水性となるように設計され得る。結合基は単一および／または二重結合、ならびに飽和または芳香族環を含み得る。結合基は、アミド、エステル、リン酸塩、エーテル、硫化物、二硫化物、アミンなどの基を含み得る。

「ω置換基アルキル」という表現は、置換基がアルキル鎖の遠位端（すなわち、末端）炭素にあることを意味する。

本発明は、新規のDNAアルキル化薬剤およびこれらのプロドラッグの合成、生物学的評価、および治療への使用を含む。酵素活性を必要としない遊離ドラッグは、U937白血病細胞およびB16黒色腫細胞に対してインビトロにおいて潜在的な抗腫瘍活性を有する（表1～2）。

表1 本発明の化合物のU937細胞に対する細胞毒性

化合物	IC <sub>50</sub> (nM)
ドキソルビシン	100
YW-161	5
YW-198	0.2
YW-200	0.01
YW-201	0.07
YW-202	0.2
YW-210	0.3
YW-212	0.05
YW-213	0.2
YW-214	0.6
YW-215	0.09
YW-216	0.09
YW-222	0.5
YW-231	0.6
YW-235	0.7
YW-242	0.09
YW-247	1.4
YW-249	0.55
YW-254	0.1
YW-258	0.08
YW-259	0.09
YW-284	9
YW-285	0.9
YW-286	5.5

表 2 本発明の化合物の B 1 6 黒色腫に対する細胞毒性

化合物	IC <sub>50</sub> (nM)
ドキソルビシン	780
YW-200	7.2
YW-231	4.0
YW-242	11.0

これらはまた、マウスの腫瘍細胞に対して効果的であり、寿命を 91% まで延ばした。これらの化合物は、天然の生成物 CC-1065 の臨床的な使用を制限してきた遅延死の兆候を示していない。他の CC-1065 アナログ、U-73975、U-7777.9、U-80244 および KW2189 は、遅延死を引き起こさず、現在臨床試験が行われている。

これらの新しい化合物のいくつかの 1 つの利点としては、側鎖のヒドロキシ基

またはアミノ基が水溶性を向上させることがある。水溶性が低いと抗腫瘍薬剤の処方、投与が困難となり、また副作用をもたらす場合もあるため、これは重要な特質である。

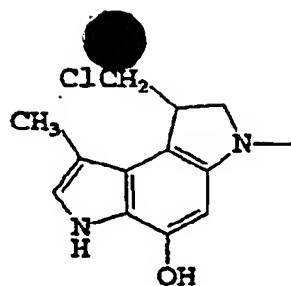
これらの化合物の別の利点は、複素環側鎖の端部のアミド結合、またはDNAアルキル化部分と複素環側鎖とを接続する二重結合により、これらの分子のDNA結合能力が増大し、これによりこれらの抗腫瘍活性が増大することである。水溶性の向上およびDNA結合能力の増大により、これらの化合物の抗腫瘍活性が向上する。

CC-1065とは異なり、これらの新しい化合物は、異なる複素環よりなる。CC-1065はAT豊富な(rich)DNA配列に結合する。これらの新しい化合物はAT豊富なDNA配列に結合する一方で、CGまたは混合ATおよびCGのDNA配列などの、他のDNA配列にも結合する。従って、これらの化合物はDNAに結合し標識し得る。

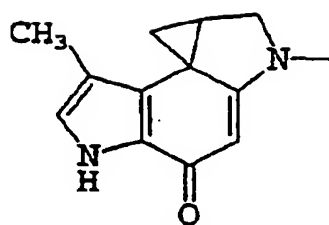
本発明の化合物の一般式は以下の通りである。



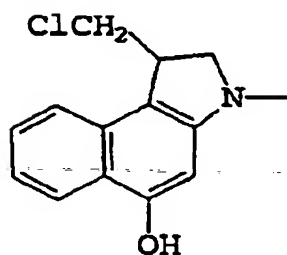
ここで、 $R_1$ は以下よりなる群から選択される。



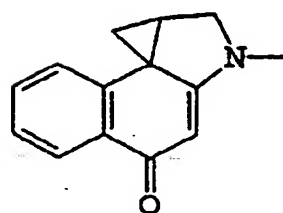
CPI-Cl



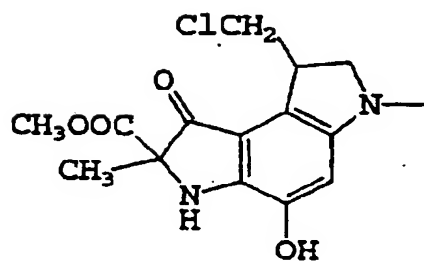
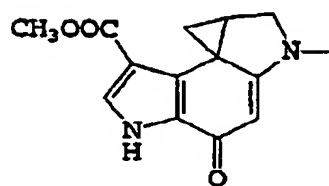
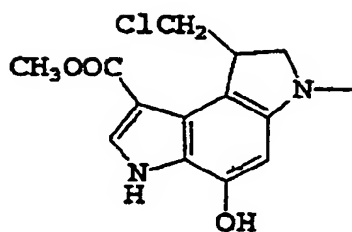
CPI



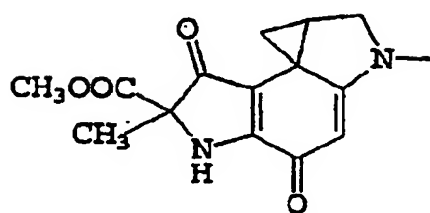
CBI-Cl



CBI



あゝび



ここで：

各  $R_2$  は同一または異なり、原子価結合または二価のヒドロカルビル基である

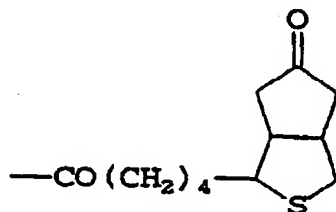
；

各  $R_3$  は同一または異なり、二価の単環または二環式複素環芳香族基である。

$m$  および  $n$  は 0 ～ 3 の整数であり、ここで  $m + n \leq 3$  である；そして、 $R_4$  は独立して、

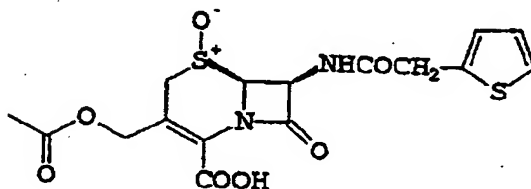
H； $C_1 \sim C_4$  アルキル； $C_1 \sim C_4$  ヒドロキシアルキル； $C_1 \sim C_4$  ヒドロキシシ

クロアルキル；ヒドロキシフェニル；ヒドロキシメチルフェニル；ヒドロキシベンジル； $C_1 \sim C_6$ アミノアルキル； $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノ $C_1 \sim C_6$ アルキル；ジ- ( $C_1 \sim C_6$ ) -アルキルアミノ $C_1 \sim C_6$ アルキル； $C_1 \sim C_6$ ウレイドアルキル；正に帯電した置換基を有するアルキル基；Z、ここでZはXまたはYのいずれかであり、ここでXは式I



(式I)

の構造であり、Yは式II、



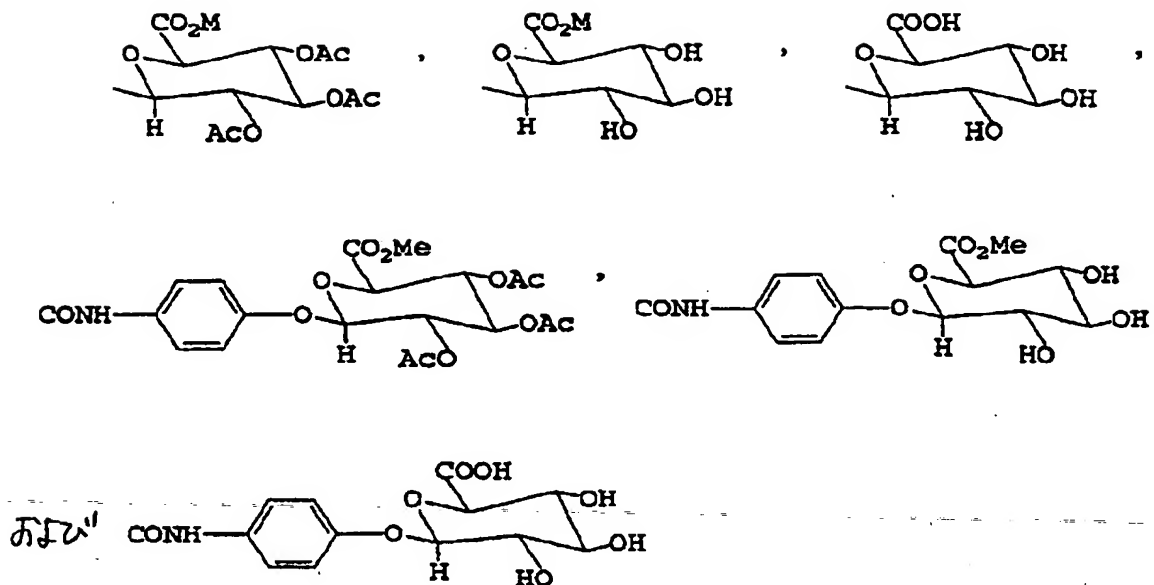
(式II)

または $C(O)R_3$ の構造であり、ここで $R_3$ は独立して、

$NH_2$ 、 $C_1 \sim C_6$ アルキル； $C_1 \sim C_6$ ヒドロキシアルキル； $C_1 \sim C_6$ ヒドロキシシクロアルキル；ヒドロキシフェニル；ヒドロキシメチルフェニル；ヒドロキシベンジル； $C_1 \sim C_6$ アミノアルキル； $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノ $C_1 \sim C_6$ アルキル；ジ- ( $C_1 \sim C_6$ ) -アルキルアミノ $C_1 \sim C_6$ アルキル； $C_1 \sim C_6$ ウレイ

ドアルキル；正に帯電した置換基を有する $C_1 \sim C_6$ アルキル基； $C_1 \sim C_6$ アルキル- $NH Z$ ； $C_1 \sim C_6$ シクロアルキル- $NH Z$ ；フェニル- $NH Z$ ；- $CH_2$ -フェニル- $NH Z$ ；-フェニル- $CH_2$ - $NH Z$ ；L-S、ここでLは結合基、Sは酵素の置換基； $C_1 \sim C_6$ アルキル- $OR_3$ ； $C_1 \sim C_6$ シクロアルキル- $OR_3$ ；フェニル- $OR_3$ ；- $CH_2$ -フェニル- $OR_3$ ；または-フェニル- $CH_2$ - $OR_3$ 、ここで $R_3$ は以下よりなる群から選択される：





ただし、 $R_1$ がHまたは $C_1 \sim C_6$ アルキルであるとき、もしくは $R_1$ が $NH_2$ 、 $C_1 \sim C_6$ アルキルまたは $C_1 \sim C_6$ アミノアルキルであるとき、 $R_2$ の1つ以上がピロールまたはイミダゾールであるとき $R_1$ がCPIまたはCPI-C1でない場合； $R_1$ がHまたは $C_1 \sim C_6$ アルキルであるとき、もしくは $R_1$ が $NH_2$ または $C_1 \sim C_6$ アルキルであるとき、

(1)  $m+n=1$  および $R_2$ がキノリンまたはインドールであるとき $R_1$ がCPIまたはCPI-C1ではない；もしくは、

(2)  $m+n=2$  および両方の $R_2$ がインドールであるとき $R_1$ がCBIまたはCBI-C1もしくはCPIまたはCPI-C1ではない場合；

$R_1$ がHまたは $C_1 \sim C_6$ アルキルであるとき、

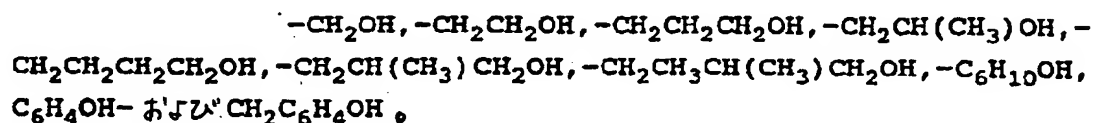
(1)  $m+n=1$  および $R_2$ がインドールであるとき $R_1$ がCBIまたはCBI-C1ではない；もしくは、

(2)  $m+n=2$  および $R_2$ の一方がインドールまたはベンゾフランであるとき $R_1$ がCPIまたはCPI-C1ではない場合に限る。

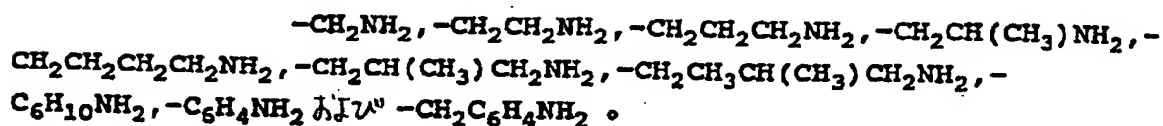
代表的なアルキル基は以下を含むがこれらに限定されない：

$CH_3$ 、 $CH_3CH_2-$ 、 $CH_3CH_2CH_2-$ 、 $CH_3CH(CH_3)-$ 、 $CH_3CH_2CH_2CH_2-$ 、 $CH_3CH(CH_3)CH_2-$  および  $CH_3CH_2CH(CH_3)CH_2-$ 。

代表的なヒドロキシアシル基は以下を含むがこれらに限定されない：



代表的なアミノアルキル基は以下を含むがこれらに限定されない：



本発明は、新規なより効力のある化合物のモノクローナル抗体結合体および酵素基質結合体を提供する。これらの結合体は、モノクローナル抗体指向性酵素プロドラッグ療法 (ADEPT, Bagshawe, Br. J. Cancer 1989, 60:272) または抗体指向性触媒作用 (ADC, JungheimおよびShepherd, Chem. Rev. 1994, 94:1553) を用いて腫瘍の成長を阻害および防止するために用いられる。これらのアプローチでは、酵素は、腫瘍特異的抗体に結合される。抗体は、腫瘍細胞表面上で酵素を選択的に局在させる。その後、酵素の基質であるプロドラッグを投与すると、腫瘍部位で遊離薬物 (free drug) が酵素の触媒作用により放出される。この方策は、ストイキオメトリ、薬物の制御された放出、および抗体の乏しい浸透といった、抗体-薬物結合体だけを使用する場合に関連する問題点に取り組んでいる。さらに、薬物放出プロセスは酵素的であるため、1つの酵素で大量の遊離薬物が生成され得る。

ここで用いられる薬物は、効力の高い化合物である。従って、使用される抗体および薬物が少量となり得る。少量の抗体を使用すれば、免疫原性の副作用が最小になり、製剤の問題点が軽減され、薬物が所望の組織に浸透する可能性が高くなり、全体のコストが削減される。

本発明に関する2つの実施例が図4に示される。第1の実施例は、酵素β-グルクロニダーゼを使用するADEPTアプローチである。ナイトロジェンマスタード

グルクロニドは、 $\beta$ -グルクロニダーゼまたは $\beta$ -グルクロニダーゼ-抗体結合体により活性化され、親化合物よりも細胞に対する毒性が高いフェノールマスタードを生成した (Wang, S. M.ら、Cancer Res. 1992、52:4484)。第2の実施例は、 $\beta$ -ラクタマーゼを用いて、その $\beta$ -ラクタムプロドラッグからドキソルビシンを切断する (cleave) (Jungheim, L. N.ら、Heterocycles、1993、35:339)。

ここで発明された新しいDNAアルキル化剤は、これまで報告されてきた抗腫瘍剤の中で最も効力が高い。本発明のプロドラッグは、ADEPTアプローチにおいてこれらの効力の高い分子を用いた最初の例である。この種類のプロドラッグは、幾つかの利点を有する。第1に、必要とされる薬物が非常に少ないことである。第2に、最小量のモノクローナル抗体-酵素結合体しか必要とされないため、免疫原性により起こる問題点が低減される。

本発明に含まれるすべてのプロドラッグは、対応する遊離薬物よりも毒性が低い。グルクロニダーゼまたは $\beta$ -ラクタマーゼなどの関連する酵素またはモノクローナル抗体-酵素結合体の存在下では、これらのプロドラッグが活性化され、遊離薬物を放出する (図5および図6)。

そのような効力の高い分子をモノクローナル抗体-薬物結合体に用いる場合、効力の低い薬剤を用いる場合に対して利点がある。腫瘍特異的抗体は、これらの分子を腫瘍細胞に特異的に運んで、これらの化合物の治療効力を高める。モノクローナル抗体-薬物結合体は、依然として癌細胞に対して非常に毒性である。Mab-YW-242結合体を、ヒト肝臓癌HepG2細胞に対してインビトロで試験した。細胞増殖についての $IC_{50}$ 値を、 $^3H$ -チミジンを組み込むことにより判定した。この結果は、表3に示される。

表3. Mab-薬物結合体 (mM) の $IC_{50}$ 値

細胞	YW-242	Mab-YW-242	ドキソルビシン
HepG2	0.2	0.5	6

一般に、酵素基質または抗体は、二官能性リンカー (bifunctional linker) により、本発明のDNAアルキル化剤に付着される。「結合基」とは、酵素基質お

よび抗体とDNAアルキル化剤との間の「化学的アーム (chemical arm)」を意味するものとする。当業者が認識するように、必要な化学構造を達成するためには、反応物の各々は、必要な反応基を含んでいなければならない。

そのような基の代表的な組み合わせは、アミド結合を形成するアミノ基とカルボキシル基との組み合わせ、エステル結合を形成するカルボキシル基とヒドロキシル基との組み合わせ、アルキルアミノ結合を形成するアミノ基とハロゲン化アルキル基 (alkyl halide) との組み合わせ、ジスルフィドを形成するチオール基とチオール基との組み合わせ、またはチオエーテルを形成するチオール基とマレイミド基もしくはハロゲン化アルキル基との組み合わせである。明らかに、ヒドロキシル基、カルボキシル基、アミノ基、またはその他の官能基は、それが存在しない場合、公知の方法により導入され得る。同様に、当業者が認識するように、様々な結合基が用いられ得る。結合の構造は、薬物または薬物誘導体を酵素基質および抗体に付着するように形成される安定した共有結合でなければならない。場合によっては、リガンドおよびレセプターの所望の結合特性を高めるために、結合基は、親水性または疎水性のいずれかに設計され得る。共有結合は、リガンドおよび結合基が受ける溶液条件に対して安定していなければならない。一般に好ましい結合基は、1~20個の炭素および0~10個のヘテロ原子 (NH、O、S) であり、分岐鎖であっても直鎖であってもよい。上記説明を限定しなくても、化学的に適合性がある原子の組み合わせだけが結合基を含むことは当業者に明らかかなはずである。例えば、炭素-炭素結合との組み合わせにおける、アミド基、エステル基、チオエーテル基、チオエステル基、ケト基、ヒドロキシル基、カルボキシル基、エーテル基は、化学的に適合性のある結合基の受容可能な例である。結合基を含み得る他の化学的に適合性のある化合物は、米国特許第5,470,997号

(第2欄および第4~7欄)、同第5,470,843号(第11~13欄)および同第5,470,932号に記載される。

末端の酸素または窒素原子のアシル化またはアルキル化により酵素基質を付着させるために用いられ得る代表的なスペーサには、以下のものがある：

$-\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_3\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{OH}$ ,  $-\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$  および  $-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$ ; および  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_3\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{NH}_2$ ,  $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2$  および  $-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2$  である。

グルクロニダーゼおよびβ-ラクタマーゼ基質に加えて、本発明のDNAアルキル化剤に結合され得る他の基質およびそれに対応する酵素としては、カルボキシペプチダーゼのためのグルタミン酸、アルカリホスファターゼのためのリン酸塩（リン酸）、α-ガラクトシダーゼのためのα-ガラクトース、ニトロ還元酵素のためのニトロベンジルカルボキシレート（ $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ ）などがある。

本発明の化合物は、抗腫瘍剤として用いられ得る。ここで示されるインビトロおよびインビボ抗腫瘍活性が、これが正しいことを立証している。本発明の化合物はまた、DNAのアルキル化、標識、検出および単離に有用である。

このように、本発明によって提供される新規な化合物および結合体は、注射（静脈内、皮下など）用もしくは静脈注入用の水溶液、または皮膚および粘膜を介する投与用の軟膏調製物に組み込まれ得る。上記のように、本発明の結合体は、治療上有効な用量、即ち、投与を必要としている哺乳類に投与された場合に、処置を行うために（例えば、疾患を軽減するかまたは別の処置を行うために、例えば癌の処置の場合では、腫瘍の成長を制御もしくは阻害するために）十分な量で、投与される。本明細書において記載される活性化合物または塩の投与は、同様の有用性を果たす薬剤の一般に認められた投与形態のうちの任意の形態で行われ得る。

製剤中の薬物のレベルは、当業者によって用いられる完全な範囲内、例えば、製剤全体に基づいて約0.01重量%（%w）～約99.9%wの薬物、および約0.01%w～約

99.9%wの賦形剤で変動し得る。好ましくは、薬物は、約10%w～約70%wの濃度で存在する。

概して、受容可能な一日量は、一日当たり、レシピエントの体重1キログラム当たり約0.04μg～50mgであり、0.08μg～10μgの範囲のより少ない用量が好

ましい。従って、70kgのヒトに投与する場合、用量範囲は、1日約 $28\mu\text{g}$ ~3.5gとなる。そのような使用および最適化は、十分に当業者の範囲内である (Flemingら、J. Nat. Cancer Institute, 1994、86G(5):368)。

投与は、一般に認められた任意の全身または局部経路（例えば、非経口、静脈内、経鼻、気管支吸入（即ち、エアロゾル製剤）、経皮または局所経路）で、固体、半固体または液体投薬形態（例えば、錠剤、坐薬、丸剤、カプセル、粉末、溶液、懸濁液、エアロゾル、乳剤など）であって、好ましくは、正確な用量を簡単に投与するために適切な単位剤形で行われ得る。静脈または皮下注入による投与が通常好ましい。最も一般的には、水性製剤が用いられる。化合物および結合体は、好ましくは約3~8のpH、最も好ましくは約6~8のpHで、無毒性で不活性の薬学的に受容可能なキャリア培地において処方される。通常、水性製剤は、培養物または灌流培地と相溶性がある。組成物は、従来の薬剤キャリアまたは賦形剤と、DNAアルキル化剤の化合物または結合体とを含み、さらに、他の医薬剤、薬剤、キャリア、アジュバントなどを含み得る。キャリアは、石油、動物、植物または合成起源の油（例えばピーナッツ油、ダイズ油、鉱油、ゴマ油など）を含む様々な油から選択され得る。水、生理食塩水、水性ブドウ糖またはマンニトール、およびグリコールが、特に注射用溶液のための、好ましい液体キャリアである。適切な薬剤キャリアには、デンプン、セルロース、タルク、グルコース、ラクトース、ショ糖、ゼラチン、麦芽、米、小麦粉、白亜、シリカゲル、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、塩化ナトリウム、乾燥脱脂乳、グリセロール、プロピレングリコール、水、エタノールなどがある。他の適切な薬剤キャリアおよびその製剤は、E. W. MartinによるREMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES(1985)に記載される。

必要に応じて、投与されるべき薬学的組成物は、例えば、酢酸ナトリウム、ソルビタンモノラウレート、トリエタノールアミンオレエート等の湿潤または乳化剤、pH緩衝化剤等のような、少量の無毒性の補助物質をも含有し得る。

一般に、本発明の化合物は、DNAアルキル化剤またはその結合体と組み合わせて薬学的賦形剤を含む薬学的組成物として投与される。処方中の結合体のレベ

ルは、当業者によって用いられる範囲全体、例えば、合計処方に基づいて、薬物約0.01重量パーセント(%w)～約99.99%wおよび賦形剤約0.01%w～99.99%wの範囲にわたって変化し得る。好ましくは、処方を、薬学的に活性な化合物の約3.5～60重量%とし、残りを適切な薬学的賦形剤とする。

「薬学的に受容可能な塩」は、無機または有機の酸または塩基から誘導されるあらゆる塩であり得る。塩は、酸または塩基から誘導され得る。

酸付加塩(acid addition salts)は、塩酸、臭化水素酸、硫酸(硫酸塩および重硫酸塩を与える)、硝酸、リン酸等のような無機酸、および、酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、ピルビン酸、シュウ酸、リンゴ酸、マロン酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、ケイヒ酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、サリチル酸、p-トルエンスルホン酸等のような有機酸から誘導される。

塩基付加塩(base addition salts)は、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウム、アンモニア、水酸化カルシウム、水酸化マグネシウム等のような無機塩基から誘導される。有機塩基から誘導されるカチオンは、イソプロピルアミン、ジエチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、シクロヘキシルアミン、エチレンジアミン、モノエタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン等のような一級、二級および三級アミンから形成されるものを含む。

本明細書において使用される、哺乳動物の症状(condition)および／または疾患の「処置(treatment)」または「処置(treating)」という用語は、

(i) 症状または疾患を防ぐ、つまり、その疾患のあらゆる臨床徴候(symptom)を回避すること、

(ii) 症状または疾患を阻害する、つまり、臨床徴候の発症(development)または進行を捕らえること、および／または、

(iii) 症状または疾患を緩和する、つまり、臨床徴候を退行(regression)させること、

を意味する。

本明細書において使用される用語「治療有効量」は、本発明の化合物の量であって、それを必要としている哺乳動物に投与したときに、抗ガン剤、抗菌剤またはDNAアルキル化剤として処置（上に規定した通り）を行うのに十分な量を指す。「治療有効量」を構成する量は、化合物、症状または疾患およびその重症度、ならびに処置されるべき哺乳動物、その体重、年齢等に応じて変わるが、当業者であれば、現在知られている知識および本明細書の開示内容に照らして日常的に決定し得るであろう。

以下の実施例は、本発明の好適な実施形態および有用性を記載するために提示されるものであり、添付の請求項の記載以外の限定を本発明に与えることを意味しない。

一般に、化合物は、必要に応じて保護基を使用して所望の順序でR<sub>1</sub>および複素環式芳香族基R<sub>2</sub>を結合し、その後、R<sub>1</sub>基を付けることによって作られる。R<sub>1</sub>が保護基として作用し得る場合もある。様々なユニットの鎖におけるカップリングは、典型的に、通常のペプチド結合形成反応、例えば、当業者に公知のカルボジイミド媒介カップリング条件を用いて達成される。本明細書において使用するもの以外のさらなる保護基は、Protective Groups in Organic Synthesis, 2nd ed. (John Wiley and Sons, Inc., New York, NY, 1991)において見られ得る。例示的な合成順序を図7および図8に示す。

本明細書に記載の化合物および中間物の単離および精製は、必要に応じて、例えば、濾過、抽出、結晶化、カラムクロマトグラフィー、分取高圧液体クロマトグラフィー（分取HPLC）、薄層クロマトグラフィーまたは厚層クロマトグラフィー、またはこれらの手順の組合せのような任意の適切な分離または精製手順によって行われ得る。これらを以下では「従来の手段」と呼ぶ。適切な分離および単離手順の具体的な説明は、以下の実施例を参照することにより得られ得る。しかし、この他の均等な分離または単離手順も使用され得る。

本発明の化合物を調製する際に使用される出発物質および試薬は、Aldrich Chemical Co.のような商業的供給者から入手可能であるか、あるいは、「Fieser a



nd Fieser's Reagents for Organic Synthesis」, Volumes 1-15, John Wiley and Sons, 1991; 「Rodd's chemistry of Carbon Compounds」, Volumes 1-5 and Supplementals, Elsevier Science Publishers, 1989; 「Organic Reactions」, Volumes 1-40, John Wiley and Sons, 1991 and 「Comprehensive Heterocyclic Chemistry」, Volumes 1-8 by Katritzki and Rees, Pergamon Press, 1984のような参考文献に記載された手順に従って当業者に公知の方法によって調製される。

#### 実施例1 インドール誘導体の合成 (図7)

##### エチル 5-アセトアミノインドール-2-カルボキシレート (3)

エチル 5-ニトロインドール-2-カルボキシレート (1, 1 g, 4.27 mmol) を酢酸エチル (100 mL) 中に溶解し、そして 5% Pd/c (100 mg) を加えた。反応混合物を、1時間、室温にて、60 lb/インチ<sup>2</sup>の圧力で水素化した。反応混合物を濾過し、そして真空中で溶媒を除去した。2の灰色粉末を得、そしてさらに精製することなく使用した。ジクロロメタン (5 mL) 中の塩化アセチル (174 mL, 2.44 mmol) の溶液を、DMF (2 mL)、ジクロロメタン (5 mL) およびトリエチルアミン (339 mL, 2.44 mmol) 中の 2 (0.417 g, 2.04 mmol) の溶液に 0℃、N<sub>2</sub>下で滴下した。反応混合物を室温まで温め、そして2時間攪拌した。水 (30 mL) を加え、そして酢酸エチル (40 mL × 2) を用いて混合物を抽出した。硫酸ナトリウムを用いて溶液を乾燥させ、そして真空中で溶媒を除去した。灰色粉末 3 を得た (437 mg, 収率 87%)。分析サンプルを酢酸エチル中で再結晶化した。mp: 202 ~ 203℃。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 11.74 (s, 1 H, NH), 9.78 (s, 1 H, NH), 7.99 (s, 1 H, Ar-H), 7.38-7.30 (m, 2 H, Ar-H), 7.09-7.08 (m, 1 H, Ar-H), 4.36-4.30 (q, 2 H, J = 7.0, 13.7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.03 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO), 1.36-1.31 (t, 3 H, J = 7.0 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)。分析 (C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), C, H, N.

##### 5-アセトアミノインドール-2-カルボン酸 (4)

3 N NaOH (2 mL) をメタノール (7 mL) 中の 3 (250 mg, 1.

0.2 mmol) の溶液に加え、そして反応混合物を、一晚、室温で撹拌した。反応混合物をエバポレートして、水 (5 mL) を加えた。20% HCl を用いて溶液を pH 2 まで中性化し、そして沈殿を濾過し、そして水で洗浄した。灰色粉末として4を得た (158 mg、収率 71%)。mp: 260 °C (dec)。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 11.62 (s, 1 H, NH), 9.77 (s, 1 H, NH), 7.98-7.97 (d, 1 H, J = 1.4 Hz, Ar-H), 7.36-7.28 (m, 2 H, Ar-H), 7.02 (d, 1 H, J = 1.5 Hz, Ar-H), 2.03 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO), 分析 (C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·0.6H<sub>2</sub>O), C, H, N.

5 - [ [5 - (アセトアミノ) - 1 H - インドール - 2 - イルカルボニル] アミノ] - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸 (6)

1 - (3 - ジメチルアミノプロピル) - 3 - エチルカルボジイミド (EDCI, 268 mg) を、DMF (3 mL) 中の2 (94 mg, 0.46 mmol) および4 (101 mg, 0.46 mmol) の溶液に加え、そして反応混合物を、一晚、室温で撹拌した。酢酸エチル (40 mL) を加え、そして炭酸ナトリウム飽和溶液 (10 mL) 続いて水 (20 mL × 2) を用いて混合物を洗浄した。硫酸ナトリウムを用いて溶液を乾燥させ、そして真空中で溶媒を除去した。灰色粉末5を得た (129 mg、収率 69%)。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 11.82, (s, 1 H, NH), 11.57 (s, 1 H, NH), 10.09 (s, 1 H, NH), 9.77 (s, 1 H, NH), 8.13-7.15 (m, 8 H, Ar-H), 4.38-4.32 (q, 2 H, J = 7.0, 13.7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.04 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO), 1.37-1.33 (t, 3 H, J = 7.0 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

MS (イオンスプレー、M/z) 404。さらなる精製を行わずに 3 N NaOH (3 mL) を、DMF (3 mL) およびメタノール (15 mL) 中の5の溶液 (103 mg, 0.25 mmol) に加え、そして反応混合物を、一晚、室温で撹拌した。反応混合物をエバポレートし、そして水 (5 mL) を加えた。20% HCl を用いて溶液を pH 2 まで中性化し、そして沈殿を濾過し、そして水で洗浄した。灰色粉末として6を得た (45 mg、収率 48%)。mp: > 300 °C。

<sup>1</sup>H

NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 12.80 (br, 1 H, COOH), 11.69, (s, 1 H, NH), 11.57 (s, 1 H, NH), 10.06 (s, 1 H, NH), 9.77 (s, 1 H, NH), 8.12-7.09 (m, 8 H, Ar-H), 2.05 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO), 分析 (C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>·1.2H<sub>2</sub>O), C, H, N.

メチル5-アセトアミノベンゾフラン-2-カルボキシレート(9)。メチル5-ニトロベンゾフラン-2-カルボキシレート(13、0.5g、2.26mmol、5-ニトロベンゾフラン-2-カルボン酸から形成、Trans World Chemical, Inc.)をエチルアセテート(40mL)に溶解し、5% Pd/C(30mg)を添加した。反応混合物を室温で1時間、60lb/平方インチの圧力で水素化した。反応混合物を濾過し、溶媒を真空中で除去した。残渣をアセトン(10mL)に溶解し、さらなる精製なしに用いた。無水酢酸(0.86mL、9.1mmol)とジメチルアミノピリジン(20mg)を添加した。溶液を室温で1時間攪拌した。水(20mL)を添加し、混合物をエチルアセテート(40mL×5)で抽出した。硫酸ナトリウムを用いて溶液を乾燥させ、溶媒を真空中で除去した。灰色の粉末9(321mg、収率61%)を得た。分析サンプルをエチルアセテート中で再結晶化した。mp:158~159℃。

<sup>1</sup>H NMR

(DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 10.03 (s, 1 H, NH), 8.19-8.18 (d, 1 H, J = 1.6 Hz, Ar-H), 7.76-7.75 (d, 1 H, J = 1.1 Hz, Ar-H), 7.65-7.63 (d, 1 H, J = 9.0 Hz, Ar-H), 7.55-7.52 (dd, 2 H, J = 2.3, 8.9 Hz, Ar-H), 3.89 (s, 1 H, OCH<sub>3</sub>), 2.07 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO), 分析 (C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub>), C, H, N.

5-アセトアミノベンゾフラン-2-カルボン酸(10)。3N NaOH(2mL)を9のメタノール(20mL)溶液(302mg、1.3mmol)に添加し、反応混合物を室温で48時間攪拌した。溶媒をエバポレートさせ、水(20mL)を添加した。20% HClを用いて溶液をpH 2まで中和し、沈殿物を濾過し水洗した。灰色の粉末(231mg、収率81%)として10を得た。mp:>300℃。

<sup>1</sup>H

NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 13.30 (s, 1 H, COOH), 10.01 (s, 1 H, NH), 8.16-8.15 (d, 1 H, J = 1.9 Hz, Ar-H), 7.65-7.60 (m, 2 H, Ar-H), 7.53-7.50 (dd, 2 H, J = 1.6, 8.4 Hz, Ar-H), 2.07 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO), 分析 (C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>·0.3H<sub>2</sub>O), C, H, N.

5-[[5-(アセトアミノ)-1H-ベンゾフラン-2-イルカルボニル]アミノ]-1H-インドール-2-カルボン酸(12)。2(186mg、0.91mmol)および16(200mg、0.91mmol)のDMF(3mL)およびTHF(3mL)溶液に、EDCI(523mg)を添加した。反応混合物を室温で一晩攪拌した。エチルアセテート(40mL)を添加し、混合物を飽和炭酸ナトリウム溶液(10mL)そしてそれに続いて水(20mL×2)、希釈HCl(10mL)および水(20mL)で洗浄した。硫酸ナトリウムを用いて溶液を乾燥させ、溶媒を真空中で除去した。エーテル(20mL)を添加し、灰色の粉末11(270mg、収率73%)を得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 11.84, (s, 1 H, NH), 10.38 (s, 1 H, NH), 10.03 (s, 1 H, NH), 8.15-7.15 (m, 8 H, Ar-H), 4.38-4.32 (q, 2 H, J = 6.9, 13.7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.08 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO), 1.37-1.33 (t, 3 H, J = 6.8 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

MS (イオンズプレー、M+2H) 406。更なる精製なしに、11(140mg、0.35mmol)の、DMF(2mL)、アセトン(10mL)、メタノール(15mL)、水(5mL)溶液に、3N NaOH(3mL)を添加し、反応混合物を室温で一晩攪拌した。溶媒を除去し、水(20mL)を添加した。20% HClを用いて溶液をpH 2まで中和し、沈殿物を濾過して水洗した。灰色の粉末(54mg、収率41%)として12を得た。mp: > 300℃。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 12.80 (br, 1 H, COOH), 11.72, (s, 1 H, NH), 10.36 (s, 1 H, NH), 10.03 (s, 1 H, NH), 8.15-7.10 (m, 8 H, Ar-H), 2.08 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO), 分析 (C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>·1.1H<sub>2</sub>O), C, H, N.

2-ヒドロキシメチル-5-ニトロインドール(13)。濃縮硫酸(1.27mL)を0℃、N<sub>2</sub>下でTHF(100ml)中の水素化リチウムアルミニウム(1.89g)に滴下した。反応混合物を0℃で20分間攪拌した。次いで、1(2g、8.5mmol)のTHF(80mL)溶液を添加し、反応混合物を0℃で30分間攪拌した。氷(10g)を慎重に添加し、混合物を濾過した。フィルターケーキをエチルアセテート(200mL)で洗浄した。水および溶媒を真空中で除去し、残渣をエチルアセテートに溶解した。溶液をセライト

で濾過し、セライトをエチルアセテート(200mL)で洗浄した。溶媒を真空中で除去し、灰色の固体7(1.48g、収率90%)を得た。分析サンプルをエチルアセテート

ト中で再結晶化した。mp:156~157℃。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , ppm): 11.77 (brs, 1 H, NH), 8.49-8.48 (d, 1 H,  $J = 3.5$  Hz, Ar-H), 7.97-7.93 (dd, 1 H,  $J = 2.4, 9.0$  Hz, Ar-H), 7.49-7.46 (d, 1 H,  $J = 9.2$  Hz, Ar-H), 6.57 (s, 1 H, Ar-H), 5.42-5.39 (t, 1 H,  $J = 5.6$  Hz, OH), 4.66-4.64 (d, 1 H,  $J = 5.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 分析 ( $\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3$ ), C, H, N.

5-アミノ-2-ヒドロキシメチルインドール(14)。13(862mg, 4.49mmol)のメタノール(50mL)溶液に、5% Pd/C(50mg)を添加し、反応混合物を1時間、50lb/平方インチの圧力で水素化した。反応混合物をセライトで濾過し、セライトをメタノールで洗浄した。溶媒を真空中で除去し、707mg(収率97%)の灰色の粉末14を得た。mp:159~160℃。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , ppm): 10.44 (s, 1 H, NH), 7.01-6.99 (d, 1 H,  $J = 8.5$  Hz, Ar-H), 6.60 (d, 1 H,  $J = 2.0$  Hz, Ar-H), 6.43-6.40 (dd, 1 H,  $J = 2.4, 8.5$  Hz, Ar-H), 5.97 (brs, 1 H, Ar-H), 5.07 (brs, 1 H, OH), 4.50 (brs, 2 H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 4.30 (brs, 2 H,  $\text{NH}_2$ ), 分析 ( $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}$ ), C, H, N.

5-アセトアミノ-2-ヒドロキシメチルインドール(15)。14(200mg, 1.25mmol)、ジメチルアミノピリジン(20mg)およびトリエチルアミン(0.94mL)の、0℃まで冷却されたTHF溶液に、アセチルクロリド(0.30mL, 4.16mmol)のTHF(5mL)溶液を滴下した。反応混合物を室温まで温め、3時間攪拌した。THFを真空中で除去し、エチルアセテート(40mL)を添加した。溶液を水(20mL×2)で洗浄した。硫酸ナトリウムを用いて溶液を乾燥させ、溶媒を真空中で除去した。残渣をメタノール(5mL)に溶解し、3N NaOH溶液(1mL)を添加した。反応を一晩進ませた。反応混合物をエバポレートさせ、水(10mL)を添加した。生成物をエチルアセテート(30mL×2)で抽出し、溶媒を真空中で除去した。生成物をアセテート中で

結晶化し、エーテルで洗浄した。128mg(収率50%)の灰色の粉末15を得た。mp:161℃。

<sup>1</sup>H NMR

(DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 10.84 (s, 1 H, NH), 9.62 (s, 1 H, NH), 7.75 (d, 1 H, J = 2.1 Hz, Ar-H), 7.22-7.10 (m, 2 H, Ar-H), 6.20 (s, 1 H, Ar-H), 6.43-6.40 (dd, 1 H, J = 2.4, 8.5 Hz, Ar-H), 5.18-5.15 (t, 1 H, J = 5.5 Hz, OH), 4.57-4.56 (d, 2 H, J = 5.4 Hz, CH<sub>2</sub>OH), 2.01 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>),  $\frac{1}{\text{p}} \text{不所}$  (C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), C, H, N.

5-アセトアミノ-2-インドールカルボキサリデヒド(16)。15(100mg、0.5mmol)のエタノール(10mL)溶液に、MnO<sub>2</sub>(250mg)を添加し、反応混合物を室温で3時間攪拌した。反応混合物を濾過し、固体をエタノールで洗浄した。溶媒を真空中で除去し、灰色の固体16(97mg、収率100%)を得た。分析サンプルをエチルアセテート中で再結晶化した。mp:200℃(dec)。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 11.80 (s, 1 H, NH), 9.84 (s, 1 H, NH), 9.81 (s, 1 H, CHO), 8.09 (s, 1 H, Ar-H), 7.38-7.32 (m, 3 H, Ar-H), 2.04 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>),  $\frac{1}{\text{p}} \text{不所}$  (C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>·0.4H<sub>2</sub>O), C, H, N.

5-アセトアミノ-2-インドールアクリル酸(18)。16(140mg、0.7mmol)を、メチル(トリフェニルホスホルアニリデン(aryliden))アセテート(257mg、0.77mmol)のトルエン(30mL)溶液に添加し、反応混合物を加熱して3日間還流させた。室温まで冷却した後、溶媒を除去した。残渣にエチルアセテート(10mL)を添加して、得られた沈殿物17を濾過した。MS(イオンスプレー)(M+H)259。更なる精製なしに、17をDMF(3mL)に溶解し、メタノール(5mL)を添加した。3N NaOH溶液(2mL)を添加し、反応混合物を一晩攪拌した。溶媒を除去し、水(10mL)を添加した。20% HClを用いて溶液を中和した。得られた沈殿物を濾過して水洗した。44mg(収率26%)の黄色の固体18を得た。mp:238~239℃。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 12.25 (brs, 1 H, COOH), 11.42 (s, 1 H, NH), 9.74 (s, 1 H, NH), 7.88 (s, 1 H, Ar-H), 7.55-7.50 (d, 1 H, J = 16.0 Hz, CH=CH), 7.28 (s, 2 H, Ar-H), 6.80 (d, 1 H, J = 2.0 Hz, Ar-H), 6.44-6.40 (d, 1 H, J = 15.8 Hz, CH=CH), 2.03 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>),  $\frac{1}{\text{p}} \text{不所}$  (C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·0.3H<sub>2</sub>O), C, H, N.

5-[(1H-ベンゾフラン-2-イルカルボニル)アミノ]-2-ヒドロキシメチルインドー

ル(20)。2 (169mg、1.04mmol)およびベンゾフラン-2-カルボン酸19(168mg、1.04mmol)のDMF(2mL)溶液に、EDCI(597mg)を添加した。反応混合物を室温で一晩攪拌した。エチルアセテート(40mL)を添加し、混合物を飽和炭酸ナトリウム溶液(8mL)そしてそれに続いて水(20mL×2)で洗浄した。硫酸ナトリウムを用いて溶液を乾燥させ、溶媒を真空中で除去した。生成物を、エチルアセテートで溶出するフラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製し、エーテル中で結晶化した。灰色の粉末20(223mg、収率70%)を得た。mp:164~165℃。

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ , ppm):  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ , ppm):  
10.96, (s, 1 H, NH), 10.27 (s, 1 H, NH), 7.93-7.29 (m, 8 H, Ar-H), 6.27 (s, 1 H, Ar-H), 5.22-5.19 (t, 1 H,  $J = 5.6$  Hz, OH), 4.61-4.60 (d, 2 H,  $\text{CH}_2$ ). 分析 ( $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$ ), C, H, N.

5-[(1H-ベンゾフラン-2-イルカルボニル)アミノ]-2-インドールカルボキサリデヒド(21)。20(100mg、0.33mmol)のエタノール(15mL)溶液に、 $\text{MnO}_2$ (0.5g)を添加し、反応混合物を室温で4時間攪拌した。反応混合物をセライトで濾過し、固体をエタノールで洗浄した。溶媒を真空中で除去し、灰色の固体21(54mg、収率54%)を得た。分析サンプルをエチルアセテート中で再結晶化した。mp:253℃ (dec)。

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ , ppm):  
10.60 (brs, 1 H, NH), 9.85, (s, 1 H, NH), 8.26 (s, 1 H, CHO), 7.84-7.35 (m, 9 H, Ar-H). 分析 ( $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3 \cdot 0.3\text{H}_2\text{O}$ ), C, H, N.

メチル5-[(1H-ベンゾフラン-2-イルカルボニル)アミノ]-2-インドールアクリレート(22)。21(100mg、0.33mmol)を、メチル(トリフェニルホスホルアニリデン)アセテート(120mg、0.36mmol)のトルエン(30mL)溶液に添加し、反応混合物を加熱して4日間還流させた。室温まで冷却した後、溶媒を除去した。生成物を、アセトンとエーテルとの溶液中で結晶化した。次いで母液を、エチルアセテートおよびヘキサン(1/2, v/v)で溶出するフラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製した。計78mg(収率66%)の黄色い固体22を得た。mp:259~260℃。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , ppm): 11.57 (s, 1 H, NH), 10.38 (s, 1 H, NH), 8.07-7.35 (m, 9 H, Ar-H, CH=CH), 6.93 (s, 1 H, Ar-H), 6.57-6.53 (d, 1 H, J = 15.8 Hz, CH=CH), 3.74 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>). 分析 (C<sub>21</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>), C, H, N.

5-[(1H-ベンゾフラン-2-イルカルボニル)アミノ]-2-インドールアクリル酸(23)  
 。22(60mg, 0.167mmol)をDMF(1.5mL)に溶解し、エタノール(3mL)を添加した。3N NaOH溶液(1.5mL)を添加して、反応混合物を一晩攪拌した。溶媒を除去して、水(10mL)を添加した。20% HClを用いて溶液を中和した。得られた沈殿物を濾過し水洗した。53mg(収率92%)の黄色い固体23を得た。mp:268°C(dec).

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , ppm): 12.27 (brs, 1 H, COOH), 11.53 (s, 1 H, NH), 10.38 (s, 1 H, NH), 8.07-7.35 (m, 9 H, Ar-H, CH=CH), 6.88 (s, 1 H, Ar-H), 6.48-6.44 (d, 1 H, J = 16.2 Hz, CH=CH). 分析 (C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>·0.4H<sub>2</sub>O), C, H, N.

5-[(4-ヒドロキシ)ブチルアミノ]インドール-2-カルボン酸(25)。1(2.5g, 10.7 mmol)のエチルアセテート(200mL)溶液を活性炭素(0.6g)担持10%パラジウムで処理し、次いで室温で1時間水素化した。反応混合物をセライトで濾過し、フィルターケーキをエチルアセテートで洗浄した。合わせた有機溶液を真空中で濃縮した。更なる精製なしに、得られたオイルをブチロアクトン(20mL)に溶解し、溶液を130°Cで18時間攪拌した。生成物を、エチルアセテート中の30%ヘキサンで溶出するフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、黄色い固体としての24(1.37g、収率44%)を得た。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , ppm) 11.72 (s, 1 H, NH), 9.73 (s, 1 H, CONH), 8.00-7.07 (m, 4 H, Ar-H), 4.47-4.44 (t, 1 H, J = 4.8 Hz, OH), 4.36-4.30 (q, 2 H, J = 7.0, 14.2 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.47-3.42 (q, 2 H, J = 6.1, 11.4 Hz, HOCH<sub>2</sub>), 2.36-2.32 (t, 2 H, J = 7.4 Hz, COCH<sub>2</sub>), 1.77-1.73 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.36-1.32 (t, 3 H, J = 7.2, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

化合物24(1.0g, 3.4mmol)のメタノール(150mL)溶液を3N水酸化ナトリウム溶液(20mL)で処理し、室温で18時間攪拌した。次いで溶液を真空中で濃縮した。水(100



mL)を添加した。溶液を20%塩酸で中和し、沈殿物を濾過して茶色の固体としての化合物25(723mg、収率65%)を得た。m.p.194~195℃。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , ppm) 12.80 (brs, 1 H, COOH), 11.60 (s, 1 H, NH), 9.72 (s, 1 H, CONH), 7.99-7.02 (m, 4 H, Ar-H), 3.47-3.43 (t, 2 H,  $J = 6.8$ ,  $\text{HOCH}_2$ ), 2.37-2.32 (t, 2 H,  $J = 7.4$ ,  $\text{COCH}_2$ ), 1.77-1.73 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ). 分析 ( $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4$ ), C, H, N.

ベンジル5-[(4-ヒドロキシ)ブチルアミノ(butyramino)]インドール-2-カルボキシレート(26)。DMF(15mL)中の化合物7(810mg、3.1mmol)の溶液の溶液を炭酸水素ナトリウム(1.6g、19.0mmol)およびベンジルブロミド(540mL、4.5mmol)で処理し、反応混合物を室温で18時間攪拌した。反応を水(80mL)によって停止し、生成物を酢酸エチルで抽出した(50mL×5)。溶

液を硫酸ナトリウムを用いて乾燥し、真空下で濃縮した。溶液を、酢酸エチル中50%ヘキサンを用いたフラッシュクロマトグラフィー溶出で精製することにより、化合物26(778mg、71%収量)を固体として得た。融点191~192℃。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , ppm) 11.78 (s, 1 H, NH), 9.73 (s, 1 H, CONH), 8.00-7.14 (m, 9 H, Ar-H), 5.37 (s, 2 H,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 4.46-4.44 (t, H,  $J = 5.2$  Hz, OH), 3.47-3.42 (q, 2 H,  $J = 6.6$ , 11.7 Hz,  $\text{HOCH}_2$ ), 2.36-2.32 (t, 2 H,  $J = 7.4$ ,  $\text{COCH}_2$ ), 1.78-1.71 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ). 分析 ( $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4 \cdot 0.3\text{H}_2\text{O}$ ), C, H, N.

5-[4-(メチル2,3,4-トリ-*o*-アセチル-1-デオキシ-*b*-D-グルクロネート)ブチルアミノ]インドール-2-カルボン酸(29)。THF(20mL)およびジクロロメタン(20mL)中の化合物26(778mg、2.21mmol)の溶液にモレキュラーシーブ(1g)を加え、窒素下において温度を-60℃に冷却した。メチル2,3,4-トリ-*o*-アセチル-1-ブロモ-1-デオキシ-*a*-D-グルクロネート(27、1.32g、3.3mmol)、トリフロロメタンスルホネート銀(852mg、3.3mmol)およびカーボネート銀(922mg、3.3mmol)を順に加え、反応混合物を10分間攪拌した。温度を室温まで上昇させ、暗所にて攪拌を2時間続けた。混合物をセライト(Celite)に通して濾過し、濾過ケ

ーキ(filter cake)を酢酸エチルで洗浄した。溶液を硫酸ナトリウムを用いて乾燥し、真空下で濃縮した。溶液を、酢酸エチル中50%ヘキサンを用いたフラッシュクロマトグラフィー溶出で精製することにより、化合物28を白色の気泡物として得た。

$^1\text{H NMR}$  (アセトン- $d_6$ , ppm): 8.88 (s, 1 H, CONH), 7.95 (s, 1 H, Ar-H), 7.47-7.21 (m, 9 H, Ar-H), 5.86-5.85 (d, 1 H,  $J = 4.5$  Hz, 糖: C1-H), 5.38 (s, 2 H,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 5.22-5.21 (t, 1 H,  $J = 2.4$  Hz, 糖: C2-H), 5.16-5.14 (m, 1 H, 糖: C4-H), 4.34-4.30 (m, 2 H, 糖: C3-H, C5-H), 3.76 (s, 3 H,  $\text{COOCH}_3$ ), 3.63-3.59 (m,  $\text{OCH}_2$ ), 2.47-2.44 (t, 2 H,  $J = 6.7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.17 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 2.08 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 2.03-2.00 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1.75 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ).

さらなる精製を行うことなく、気泡物を酢酸エチル (15mL) 中に溶解し、活性炭 (600mg) 上の10%パラジウムにより処理した後、室温にて1時間水素付加した。混合物をセライトに通して濾過し、濾過ケーキを酢酸エチルで洗浄した。化合した有機物を真空下で濃縮することにより、化合物29 (846mg, 66%) を石油エーテルから結晶化した白色の気泡物として得た。融点94~96℃。

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ , ppm) 11.43 (s, 1 H, NH), 9.69 (s, 1 H, CONH), 7.94-6.91 (m, 4 H, Ar-H), 5.88-5.87 (d, 1 H,  $J = 4.2$  Hz, 糖: C1-H), 5.09-5.07 (t, 1 H,  $J = 3.2$  Hz, 糖: C2-H), 5.05-5.02 (m, 1 H, 糖: C4-H), 4.42-4.40 (d, 1 H,  $J = 6.2$  Hz, 糖: C5-H), 4.36-4.35 (t, 1 H,  $J = 3.3$  Hz, 糖: C3-H), 3.69 (s, 3 H,  $\text{COOCH}_3$ ), 3.51-3.48 (t, 2 H,  $J = 6.4$  Hz,  $\text{OCH}_2$ ), 2.37-2.33 (t, 2 H,  $J = 7.6$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.05 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 2.02 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 1.82-1.79 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1.65 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ).

エチル5-(tert-ブチルオキシカルボニルアミノ)インドール-2-カルボキシレート (30)。酢酸エチル (200mL) 中の化合物1 (2.5g, 10.7mmol) の溶液を活性炭 (200mg) 上の10%パラジウムにより処理した後、室温にて1時間水素付加した。混合物をセライトに通して濾過し、濾過ケーキを酢酸エチルで洗浄した。化合した有機物を真空下で濃縮した。残渣を酢酸エチル (150mL) に溶解し、ジ-tert-ブチルジカーボネート (5.8g, 26.6mmol) で処理し、反応混合物を室温で18

時間攪拌した。反応を水 (40mL) で停止し、エチルエセテート溶液を分離した。溶液を硫酸ナトリウムで乾燥し、真空下で濃縮することにより、化合物 30 (2.61g、80%) を黄色の固体として得た。融点190~192℃。

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ , ppm): 11.69 (s, 1 H, NH), 9.13 (s, 1 H, CONH), 7.79-7.04 (m, 4 H, Ar-H), 4.35-4.30 (q, 2 H,  $J = 6.8$ , 13.9 Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1.48 (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.35-1.31 (t, 3 H,  $J = 6.7$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$ , C, H, N.

5-(tert-ブチルオキシカルボニルアミノ)インドール-2-カルボン酸 (31)。メタノール (200mL) 中の化合物 30 (2.61g、8.6mmol) の溶液を 3 N 水酸化ナトリウム溶液 (50mL) で処理した後、反応混合物を室温にて18時間攪拌した。溶媒を除去した。水 (100mL) を加えた。溶液を20%塩酸により中和し、沈殿物を濾過することにより、化合物 31 (2.03g、86%) を黄色固体として得た。融点192~193℃。

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ , ppm) 12.83 (brs, 1 H, COOH), 11.69 (s, 1 H, NH), 9.13 (s, 1 H, CONH), 7.79-7.04 (m, 4 H, Ar-H), 1.48 (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ).  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ , C, H, N.

ベンジル5-(tert-ブチルオキシカルボニルアミノ)インドール-2-カルボキシレート (32)。DMF (50mL) 中の化合物 31 (2.03g、7.4mmol) の溶液の溶液を炭酸水素ナトリウム (1.8g、21.4mmol) およびベンジルブロミド (4mL、33.6mmol) で処理した。反応混合物を室温で18時間攪拌した。水 (50mL) を加え、生成物を酢酸エチルで抽出した (80mL  $\times$  3)。溶液を硫酸ナトリウムを用いて乾燥し、真空下で濃縮することにより、化合物 32 (2.27g、84%収量) を白色の固体として得た。融点180~182℃。

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ , ppm): 11.93 (s, 1 H, NH), 7.51-7.02 (m, 9 H, Ar-H), 5.38 (s, 2 H,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 1.48 (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ).  $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4 \cdot 0.25\text{H}_2\text{O}$ , C, H, N.

ベンジル5-[[5-(4-ヒドロキシ)ブチルアミノ]-1H-インドール-2-イルカルボニル

]アミノ]-1H-インドール-2-カルボキシレート (34)。DMF (1mL) 中の32からの化合物33 (280mg、0.77mmol) を25 (200mg、0.76mmol) および1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド (EDCL 440mg、2.30mmol) で処理し、反応混合物を室温で18時間攪拌した後、水 (20mL) で希釈し、酢酸エチルで抽出した (50mL×3)。有機層を硫酸ナトリウムを用いて

乾燥し、真空下で濃縮した。生成物を酢酸エチルを用いたフラッシュクロマトグラフィー溶出で精製することにより、化合物34 (232mg、60%収量) を黄白色固体として得た。融点242~243℃。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 11.87 (s, 1 H, NH), 11.55 (s, 1 H, NH), 10.08 (s, 1 H, CONH), 9.71 (s, 1 H, CONH), 8.13-7.22 (m, 13 H, Ar-H), 5.39 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 4.47-4.45 (t, 1 H, J = 5.1 Hz, OH), 3.48-3.44 (q, 2 H, J = 6.4, 11.9 Hz, HOCH<sub>2</sub>), 2.38-2.33 (t, 2 H, J = 7.5 Hz, COCH<sub>2</sub>), 1.78-1.74 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>).

5-[[5-(4-ヒドロキシ)ブチルアミノ]-1H-インドール-2-イルカルボニル]アミノ]-1H-インドール-2-カルボン酸 (35)。DMF (1mL) およびメタノール (20mL) 中の34 (230mg、0.45mmol) の溶液を活性炭 (20mg) 中の10%パラジウムにより処理し、室温にて1時間水素付加した。混合物をセライトに通して濾過し、濾過ケーキをメタノールで洗浄した。化合した有機物を真空下で濃縮することにより、化合物35 (160mg、84%) を白色固体として得た。融点249~251℃。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 12.75 (s, 1 H, COOH), 11.68 (s, 1 H, NH), 11.54 (s, 1 H, NH), 10.05 (s, 1 H, CONH), 9.70 (s, 1 H, CONH), 8.12-7.09 (m, 8 H, Ar-H), 4.47-4.44 (t, 1 H, J = 5.4 Hz, OH), 3.49-3.44 (q, 2 H, J = 6.4, 11.0 Hz, HOCH<sub>2</sub>), 2.38-2.34 (t, 2 H, J = 7.4 Hz, COCH<sub>2</sub>), 1.80-1.74 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>).

ベンジル5-[[5-[4-(メチル2,3,4-トリ-O-アセチル-1-デオキシ-b-D-グルクロネート)ブチルアミノ]-1H-インドール-2-イルカルボニル]アミノ]-1H-インドール-2-カルボキシレート (37)。塩化水素で飽和させた酢酸エチル (20mL) 中の化合物32 (280mg、0.77mmol) の溶液を30分間環流した。懸濁液を真空中で濃

縮することにより固体を得、これを酢酸エチル (20mL) 中のトリアチルアミン (6mL) で処理した。反応混合物を室温で10分間攪拌して濾過した。溶液を真空下で濃縮することにより33を得た。さらなる精製を行うことなく、後者をDMF中(1mL)に溶解し、化合物36 (200mg、0.35mmol)、1,3-ジ

クロロヘキシルカルボジイミド (DCC、214mg、1.04mmol) および1-ヒドロキシベンゾトリアゾール水和物 (HOBT、140mg、1.04mmol) で処理した。反応混合物を室温で2時間攪拌した後、水 (10mL) で希釈し、酢酸エチルで抽出した (50mL×3)。溶液を硫酸ナトリウムを用いて乾燥し、真空下で濃縮した。生成物をヘキサンおよび酢酸エチル (3/7、v/v) の溶液を用いたフラッシュクロマトグラフィー溶出で精製することにより、化合物37 (230mg、80%収量) を黄色固体として得た。融点143~145℃。

<sup>1</sup>H NMR

(DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 11.87 (s, 1 H, NH), 11.56 (s, 1 H, NH), 10.08 (s, 1 H, CONH), 9.73 (s, 1 H, CONH), 8.14-7.22 (m, 13 H, Ar-H), 5.89-5.88 (d, 1 H, J = 4.4 Hz, 糖 C1-H), 5.39 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 5.09-5.08 (t, 1 H, J = 2.9 Hz, 糖 C2-H), 5.05-5.02 (m, 1 H, 糖 C4-H), 4.43-4.41 (d, 1 H, J = 6.7 Hz, 糖 C5-H), 4.37-4.35 (t, 1 H, J = 3.4 Hz, 糖 C3-H), 3.69 (s, 3 H, COOCH<sub>3</sub>), 3.52-3.49 (t, 2 H, J = 6.4 Hz, OCH<sub>2</sub>), 2.39-2.34 (t, 2 H, J = 7.7 Hz, COCH<sub>2</sub>), 2.05 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO), 2.03 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO), 1.84-1.80 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.66 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO).

5-[[5-[4-(メチル2,3,4-トリ-o-アセチル-1-デオキシ-b-D-グルクロネート)ブチルアミノ]-1H-インドール-2-イルカルボニル]アミノ]-1H-インドール-2-カルボン酸 (38)。酢酸エチル (35mL) 中の37 (230mg、0.28mmol) の溶液を活性炭 (20mg) 上の10%パラジウムにより処理し、室温にて1時間水素付加した。混合物をセライトに通して濾過し、濾過ケーキを酢酸エチルで洗浄した。化合した有機物を真空下で濃縮することにより、化合物38 (176mg、86%収量) をエーテルから静置により結晶化した黄色油として得た。融点76~79℃。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , ppm): 12.81 (brs, 1 H, COOH), 11.67 (s, 1 H, NH), 11.54 (s, 1 H, NH), 10.05 (s, 1 H, CONH), 9.72 (s, 1 H, CONH), 8.12-7.08 (m, 8 H, Ar-H), 5.89-5.88 (d, 1 H,  $J = 4.7$  Hz, 糖 C1-H), 5.09-5.08 (t, 1 H,  $J = 3.0$  Hz, 糖 C2-H), 5.05-5.03 (m, 1 H, 糖 C4-H), 4.42-4.41 (d, 1 H,  $J = 6.6$  Hz, 糖 C5-H), 4.37-4.35 (t, 1 H,  $J = 3.2$  Hz, 糖 C3-H), 3.69 (s, 3 H, COOCH<sub>3</sub>), 3.52-3.49 (t, 2 H,  $J = 5.8$  Hz, OCH<sub>2</sub>), 2.39-2.34 (t, 2 H,  $J = 7.8$  Hz, COCH<sub>2</sub>), 2.05 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO), 2.03 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO), 1.84-1.80 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.66 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO).

ベンジル5-[[5-[[5-[4-(メチル2,3,4-トリ-*o*-アセチル-1-デオキシ-*b*-D-グルクロネート)ブチルアミノ]-1H-インドール-2-イルカルボニル]アミノ]-1H-インドール-2-イルカルボニル]アミノ]-1H-インドール-2-カルボキシレート (39)。

37で説明したのと同様な手順を用いて39を黄色固体として合成した (98%収量)。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , ppm): 11.88 (s, 1 H, NH), 11.66 (s, 1 H, NH), 11.58 (s, 1 H, NH), 10.12 (s, 1 H, CONH), 10.07 (s, 1 H, CONH), 9.73 (s, 1 H, CONH), 8.16-7.23 (m, 17 H, Ar-H), 5.89-5.88 (d, 1 H,  $J = 4.5$  Hz, 糖 C1-H), 5.40 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 5.09-5.08 (t, 1 H,  $J = 2.5$  Hz, 糖 C2-H), 5.05-5.04 (m, 1 H, 糖 C4-H), 4.43-4.41 (d, 1 H,  $J = 6.6$  Hz, sugar C5-H), 4.37-4.35 (t, 1 H,  $J = 3.4$  Hz, 糖 C3-H), 3.69 (s, 3 H, COOCH<sub>3</sub>), 3.52-3.49 (t, 2 H,  $J = 6.4$  Hz, OCH<sub>2</sub>), 2.39-2.34 (t, 2 H,  $J = 7.7$  Hz, COCH<sub>2</sub>), 2.05 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO), 2.03 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO), 1.84-1.80 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.66 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO).

5-[[5-[[5-[4-(メチル2,3,4-トリ-*o*-アセチル-1-デオキシ-*b*-D-グルクロネート)ブチルアミノ]-1H-インドール-2-イルカルボニル]アミノ]-1H-インドール-2-イルカルボニル]アミノ]-1H-インドール-2-カルボン酸 (40)。38で説明したのと同様な手順を用いて40を黄色固体として合成した (86%収量)。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , ppm): 11.66 (s, 1 H, NH), 11.60 (s, 1 H, NH), 11.47 (s, 1 H, NH), 10.09 (s, 1 H, CONH), 10.08 (s, 1 H, CONH), 9.73 (s, 1 H, CONH), 8.14-6.97 (m, 12 H, Ar-H), 5.89-5.88 (d, 1 H,  $J = 4.4$  Hz, 糖 C1-H), 5.10-5.08 (t, 1 H,  $J = 3.1$  Hz, 糖 C2-H), 5.06-5.03 (m, 1 H, 糖 C4-H), 4.43-4.41 (d, 1 H,  $J = 6.6$  Hz, 糖 C5-H), 4.38-4.36 (t, 1 H,  $J = 3.3$  Hz, 糖 C3-H), 3.69 (s, 3 H,  $\text{COOCH}_3$ ), 3.54-3.51 (t, 2 H,  $J = 6.3$  Hz,  $\text{OCH}_2$ ), 2.39-2.35 (t, 2 H,  $J = 7.8$  Hz,  $\text{COCH}_2$ ), 2.05 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 2.03 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 1.86-1.80 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1.66 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ).

## 実施例 2

3-[[5-(アセトアミノ)-1H-インドール-2'-イル]カルボニル]-1-(クロロメチル)-5-ヒドロキシ-1,2-ジヒドロ-3H-ベンズ[e]インドール (YW-198)。

EDCI (58mg) を、報告されている手順 (Aristoffら、J. Med. Chem., 1993、36、1956) に基づいて合成された 41 (23mg, 0.1mmol) の溶液、および DMF 中 (1mL) の化合物 4 (23mg, 0.11mmol) に加えた。反応混合物を室温で一晩攪拌した。生成物を酢酸エチルを用いた薄層クロマトグラフィー溶出により精製した。灰色粉である YW-198 が得られた (9.5mg, 22% 収量)。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , ppm): 11.57 (s, 1 H, NH), 10.52 (s, 1 H, OH), 9.89 (s, 1 H, NH), 8.25-7.23 (m, 9 H, Ar-H), 4.90-4.85 (dd, 1 H,  $J = 9.6, 11.0$  Hz, NH), 4.75-4.71 (dd, 1 H,  $J = 1.8, 10.6$  Hz, NH), 4.35-4.28 (m, 1 H,  $\text{ClCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 4.14-4.10 (dd, 1 H,  $J = 3.4, 11.1$  Hz,  $\text{CHHCl}$ ), 3.97-3.92 (dd, 1 H,  $J = 8.0, 11.1$  Hz,  $\text{CHHCl}$ ), 2.12 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ).

## 実施例 3

3-[[5-[[5-(アセトアミノ)-1H-インドール-2-イル]カルボニル]アミノ]-1H-インドール-2-イル]カルボニル]-1-(クロロメチル)-5-ヒドロキシ-1,2-ジヒドロ-3H-ベンズ[e]インドール (YW-200)。

YW-200 を、6 を用いた以外は YW-198 で説明したのと同様な手順を用いて合成し、灰色粉を得た (80% 収量)。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , ppm): 11.63 (s, 1 H, NH), 11.61 (s, 1 H, NH), 10.51 (s, 1 H, OH), 10.12 (s, 1 H, NH), 9.84 (s, 1 H, NH), 8.38-7.29 (m, 13 H, Ar-H), 4.92-4.86 (dd, 1 H,  $J = 9.6, 11.0$  Hz, NHH), 4.77-4.74 (dd, 1 H,  $J = 1.8, 10.6$  Hz, NHH), 4.36-4.28 (m, 1 H,  $\text{ClCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 4.15-4.11 (dd, 1 H,  $J = 3.0, 10.8$  Hz,  $\text{CHHCl}$ ), 3.98-3.93 (dd, 1 H,  $J = 7.9, 11.0$  Hz,  $\text{CHHCl}$ ), 2.04 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ).

#### 実施例 4

3-[[5-[[5-(アセトアミノ)-1H-ベンゾフラン-2-イルカルボニル]アミノ]-1H-インドール-2-イル]カルボニル]-1-(クロロメチル)-5-ヒドロキシ-1,2-ジヒドロ-3H-ベンズ[e]インドール (YW-201)。

YW-201を、12を用いた以外はYW-198で説明したのと同様な手順を用いて合成し、灰色粉を得た (53%収量)。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , ppm): 11.66 (s, 1H, NH), 10.51 (s, 1H, OH), 10.46 (s, 1 H, NH), 10.10 (s, 1 H, NH), 8.42-7.30 (m, 13 H, Ar-H), 4.92-4.88 (t, 1 H,  $J = 10.2$  Hz, NHH), 4.77-4.74 (dd, 1 H,  $J = 1.8, 10.9$  Hz, NHH), 4.36-4.28 (m, 1 H,  $\text{ClCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 4.15-4.11 (dd, 1 H,  $J = 2.7, 10.7$  Hz,  $\text{CHHCl}$ ), 3.98-3.93 (dd, 1 H,  $J = 7.7, 11.0$  Hz,  $\text{CHHCl}$ ), 2.10 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ).

#### 実施例 5

$\text{N}^1$ -[[5-[[[5-(アセトアミノ)-1H-ベンゾフラン-2-イル]カルボニル]アミノ]-1H-インドール-2-イル]カルボニル]1,2,9,9a-テトラヒドロシクロプロパ[c]-ベンズ[e]インドール-4-オン (YW-213)。

YW-201をアセトニトリル (3 mL)、トリエチルアミン (1 mL) および水 (1 mL) の溶液に溶解し、室温で1時間攪拌した。真空下で溶媒を除去し、酢酸エチルおよびヘキサン (3/1, v/v) を用いて薄膜クロマトグラフィー溶出により生成物を精製し、8.7 mg の灰色の固体を生成した。



$^1\text{H}$  NMR (DMF-d7, ppm): 11.88 (s, 1 H, NH), 10.51 (s, 1 H, NH), 10.15 (s, 1 H, NH), 8.21-6.97 (m, 13 H, Ar-H), 4.66-4.61 (dd, 1 H,  $J = 5.0, 11.3$  Hz, C1-H), 4.52-4.49 (d, 1 H,  $J = 10.2$  Hz, C1-H), 3.07-3.05 (m, 1 H, C9a-H), 2.10 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>), 1.78-1.75 (dd, 1 H,  $J = 3.6, 7.3$  Hz, C2-H), 1.72-1.70 (t, 1 H,  $J = 4.9$  Hz, C9-H).

#### 実施例 6

3 - [[5 - (アセトアミノ) - 1 H - インドール - 2 - イル] アクリルイル] - 1 - (クロロメチル) - 5 - ヒドロキシ - 1, 2 - ジヒドロ - 3 H - ベンズ [e] インドール (YW-202)。

18 を用いたこと以外は YW-198 について記載したのと同様の手法を用いて YW-202 を合成し、灰色の粉末 (収率 13%) を得た。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO-d6, ppm): 11.69 (s, 1 H, NH), 10.52 (s, 1 H, OH), 9.82 (s, 1 H, NH), 8.28-6.90 (m, 11 H, Ar-H), 4.55-4.54 (d, 1 H,  $J = 4.7$  Hz, NHH), 4.27-4.23 (m, 2 H, NHH, C1CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 4.12-4.08 (dd, 1 H,  $J = 3.1, 11.0$  Hz, CHHCl), 3.91-3.85 (dd, 1 H,  $J = 8.8, 11.1$  Hz, CHHCl), 2.12 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>).

#### 実施例 7

3 - [[5 - [(1 H - ベンゾフラン - 2 - イル アクリルイル) アミノ] - 1 H - インドール - 2 - イル] カルボニル] - 1 - (クロロメチル) - 5 - ヒドロキシ - 1, 2 - ジヒドロ - 3 H - ベンズ [e] インドール (YW-215)。

23 を用いたこと以外は YW-198 について記載したのと同様の手法を用いて YW-215 を合成し、灰色の粉末 (収率 55%) を得た。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO-d6, ppm): 11.82 (s, 1 H, NH), 11.68 (s, 1 H, NH), 10.51 (s, 1 H, OH), 10.45 (s, 1 H, NH), 8.43-6.98 (m, 16 H, Ar-H), 4.90-4.87 (dd, 1 H,  $J = 9.2, 11.1$  Hz, NHH), 4.77-4.74 (dd, 1 H,  $J = 2.2, 10.9$  Hz, NHH), 4.36-4.28 (m, 1 H, C1CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 4.15-4.11 (dd, 1 H,  $J = 3.3, 11.3$  Hz, CHHCl), 3.99-3.93 (dd, 1 H,  $J = 8.1, 10.8$  Hz, CHHCl).

#### 実施例 8

3 - [[5 - [(4 - ヒドロキシ) ブチルアミノ] - 1 H - インドール - 2 -

- 1 - (クロロメチル) - 5 - ヒドロキシ - 1, 2 - ジヒドロ - 3 H - ベンズ [ e ] インドール ( Y W - 2 5 4 ) 。

3 5 を用いたこと以外は Y W - 1 9 8 について記載したのと同様の手法を用いて Y W - 2 5 4 を合成し、黄色の固体 (収率 1 9 %) を得た。

$^1\text{H}$  NMR (DMF- $d_6$ , ppm): 11.74 (s, 1 H, NH), 11.62 (s, 1 H, NH), 10.47 (s, 1 H, Ar-OH), 10.44 (s, 1 H, CONH), 9.89 (s, 1 H, CONH), 8.43-7.06 (m, 13 H, Ar-H), 4.95-4.86 (m, 1 H, NCHH), 4.76-4.72 (m, 1 H, NCHH), 4.60-4.54 (brs, 1 H, CH<sub>2</sub>OH), 4.34-4.28 (m, 1 H, ClCH<sub>2</sub>CH), 4.15-4.11 (dd, 1 H, J = 3.2, 10.7 Hz, ClCHH), 3.98-3.93 (dd, 1 H, J = 8.2, 11.1 Hz, ClCHH), 3.66-3.64 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>OH), 2.52-2.48 (t, 2 H, J = 7.4, Hz, COCH<sub>2</sub>), 1.92-1.85 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>) 。

#### 実施例 1 1

3 - [ [ 5 - [ [ 5 - [ 4 - (メチル 2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - 1 - デオキシ - b - D - グルクロネート) ブチルアミノ ] - 1 H - インドール - 2 - イルカルボニル ] アミノ ] - 1 H - インドール - 2 - イル ] カルボニル ] - 1 - (クロロメチル) - 5 - ヒドロキシ - 1, 2 - ジヒドロ - 3 H - ベンズ [ e ] インドール ( Y W - 2 4 9 ) 。

3 8 を用いたこと以外は Y W - 1 9 8 について記載したのと同様の手法を用いて Y W - 2 4 9 を合成し、黄色の固体 (収率 1 5 %) を得た。

$^1\text{H}$  NMR (DMF- $d_6$ , ppm): 11.61 (s, 2 H, 2 NH), 10.20 (s, 1 H, CONH), 9.79 (s, 1 H, CONH), 8.38-7.27 (m, 13 H, Ar-H), 5.99-5.98 (d, 1 H, J = 4.6 Hz, 糖 C1-H), 5.22-5.20 (t, 1 H, J = 3.1 Hz, 糖 C2-H), 5.16-5.13 (m, 1 H, 糖 : C4-H), 4.91-4.86 (t, 1 H, J = 8.7 Hz, NCHH), 4.77-4.73 (dd, 1 H, J = 1.8, 11.4 Hz, CHHCl), 4.51-4.48 (m, 2 H, 糖 C3-H, C5-H), 4.34-4.32 (m, 1 H, ClCH<sub>2</sub>CH), 4.15-4.11 (dd, 1 H, J = 3.4, 11.2 Hz, ClCHH), 3.98-3.92 (dd, 1 H, J = 8.0, 11.1 Hz, ClCHH), 3.77 (s, 3 H, COOCH<sub>3</sub>), 3.63-3.59 (t, 2 H, J = 6.6 Hz, OCH<sub>2</sub>), 2.50-2.46 (t, 2 H, J = 7.3 Hz, COCH<sub>2</sub>), 2.10 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO), 2.08 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO), 1.94-1.90 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.72 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO) 。

#### 実施例 1 2

イル]カルボニル] - 1 - (クロロメチル) - 5 - ヒドロキシ - 1, 2 - ジヒドロ - 3 H - ベンズ [e] インドール (YW - 231)。

25を用いたこと以外はYW - 198について記載したのと同様の手法を用いてYW - 231を合成し、黄色の固体 (収率36%) を得た。

# <sup>1</sup>H NMR

(アセトン - d<sub>6</sub>, ppm): 10.73 (s, 1 H, NH), 9.27 (s, 1 H, Ar-OH), 9.08 (s, 1 H, CONH), 8.27-7.20 (m, 9 H, Ar-H), 4.84-4.80 (m, 2 H, NCH<sub>2</sub>), 4.33-4.26 (m, 1 H, ClCH<sub>2</sub>CH), 4.09-4.05 (dd, 1 H, J = 3.6, 11.2 Hz, ClCHH), 3.85-3.79 (dd, 1 H, J = 8.5, 11.2 Hz, ClCHH), 3.73-3.69 (t, 1 H, J = 5.6, CH<sub>2</sub>OH), 3.66-3.61 (q, 2 H, J = 5.9, 11.5 Hz, CH<sub>2</sub>OH), 2.51-2.47 (t, 2 H, J = 7.1, Hz, COCH<sub>2</sub>), 1.92-1.89 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)。

## 実施例 9

3 - [ [5 - [4 - (メチル 2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - 1 - デオキシ - b - D - グルクロネート) ブチルアミノ] - 1 H - インドール - 2' - イル] カルボニル] - 1 - (クロロメチル) - 5 - ヒドロキシ - 1, 2 - ジヒドロ - 3 H - ベンズ (e) インドール (YW - 247)。

29を用いたこと以外はYW - 198について記載したのと同様の手法を用いてYW - 247を合成し、黄色の固体 (収率12%) を得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMF-d<sub>6</sub>, ppm): 11.56 (s, 1 H, NH), 10.5 (brs, 1 H, OH), 9.84 (s, 1 H, CONH), 8.25-7.23 (m, 9 H, Ar-H), 5.99-5.98 (d, 1 H, J = 4.1 Hz, 糖 C1-H), 5.22-5.20 (t, 1 H, J = 2.9 Hz, 糖 C2-H), 5.15-5.13 (m, 1 H, 糖 C4-H), 4.90-4.84 (t, 1 H, J = 8.6, NCHH), 4.75-4.71 (dd, 1 H, J = 1.1, 12.2 Hz, NCHH), 4.51-4.48 (m, 2 H, 糖 C3-H, C5-H), 4.33-4.28 (m, 1 H, ClCH<sub>2</sub>CH), 4.14-4.10 (dd, 1 H, J = 2.6, 10.6 Hz, ClCHH), 3.96-3.91 (dd, 1 H, J = 7.8, 10.9 Hz, ClCHH), 3.77 (s, 3 H, COOCH<sub>3</sub>), 3.63-3.59 (t, 2 H, J = 6.9 Hz, OCH<sub>2</sub>), 2.50-2.46 (t, 2 H, J = 7.1 Hz, COCH<sub>2</sub>), 2.10 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO), 2.08 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO), 1.96-1.90 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.72 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO)。

## 実施例 10

3 - [ [5 - [ [5 - [4 - (ヒドロキシ) ブチルアミノ] - 1 H - インドール - 2 - イルカルボニル] アミノ] - 1 H - インドール - 2 - イル] カルボニル]

3 - [ [ 5 - [ [ 5 - [ [ 5 - [ 4 - (メチル 2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - 1 - デオキシ - b - D - グルクロネート) ブチルアミノ ] - 1 H - インドール - 2 - イルカルボニル ] アミノ ] - 1 H - インドール - 2 - イルカルボニル ] アミノ ] - 1 H - インドール - 2 - イル ] カルボニル ] - 1 - (クロロメチル) - 5 - ヒドロキシ - 1, 2 - ジヒドロ - 3 H - ベンズ [ e ] インドール ( Y W - 2 5 8 ) 。

40 を用いたこと以外は Y W - 1 9 8 について記載したのと同様の手法を用いて Y W - 2 5 8 を合成し、黄色の固体 (収率 8 %) を得た。

$^1\text{H}$  NMR (DMF- $d_6$ , ppm): 11.66 (s, 1 H, NH), 11.62 (s, 1 H, NH), 11.56 (s, 1 H, NH), 10.56 (brs, 1 H, OH), 10.25 (s, 1 H, CONH), 10.18 (s, 1 H, CONH), 9.82 (s, 1 H, CONH), 8.37-7.29 (m, 17 H, Ar-H), 5.99-5.98 (d, 1 H,  $J = 4.4$  Hz, 糖 C1-H), 5.22-5.20 (t, 1 H,  $J = 3.1$  Hz, 糖 C2-H), 5.15-5.12 (m, 1 H, 糖 C4-H), 4.92-4.87 (t, 1 H,  $J = 8.8$  Hz, NCHH), 4.77-4.72 (dd, 1 H,  $J = 1.8, 11.5$  Hz, NCHH), 4.51-4.48 (m, 2 H, 糖 C3-H, C5-H), 4.34-4.32 (m, 1 H, ClCH<sub>2</sub>CH), 4.16-4.12 (dd, 1 H,  $J = 3.4, 11.3$  Hz, ClCHH), 3.99-3.93 (dd, 1 H,  $J = 8.0, 11.2$  Hz, ClCHH), 3.77 (s, 3 H, COOCH<sub>3</sub>), 3.63-3.59 (t, 2 H,  $J = 6.7$  Hz, OCH<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O に 1 H), 2.50-2.46 (t, 2 H,  $J = 6.8$  Hz, COCH<sub>2</sub>), 2.11 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO), 2.08 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO), 1.95-1.91 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.73 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CO)。

### 実施例 13

3 - [ [ 5 - [ [ 5 - [ [ 5 - [ 4 - (ヒドロキシ) ブチルアミノ ] - 1 H - インドール - 2 - イルカルボニル ] アミノ ] - 1 H - インドール - 2 - イルカルボニル ] アミノ ] - 1 H - インドール - 2 - イル ] カルボニル ] - 1 - (クロロメチル) - 5 - ヒドロキシ - 1, 2 - ジヒドロ - 3 H - ベンズ [ e ] インドール ( Y W - 2 5 9 ) 。

DMF (2 mL) 中の Y W - 2 5 8 (6.5 mg, 0.006 mmol) の溶液を塩化水素 (0.25 mL) で飽和した酢酸エチルの溶液で処理し、室温で 3 時間攪拌した。真空下で溶媒を除去し、生成物をエーテルで洗浄し、目的の化合物 Y W - 2 5 8 (4.2 mg, 91 %) を黄色の固体として得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMF-d<sub>6</sub>, ppm) 11.77

(s, 1 H, NH), 11.67 (s, 1 H, NH), 11.62 (s, 1 H, NH), 10.54 (s, 1 H, Ar-OH), 10.31 (s, 1 H, CONH), 10.23 (s, 1 H, CONH), 9.82 (s, 1 H, CONH), 8.40-7.29 (m, 16 H, Ar-H), 6.54 (s, 1 H, Ar-H), 4.93-4.87 (t, 1 H, J = 8.5 Hz, NCHH), 4.77-4.74 (dd, 1 H, J = 1.6, 11.1 Hz, NCHH), 4.56-4.53 (t, 1 H, J = 4.9 Hz, CH<sub>2</sub>OH), 4.36-4.32 (m, 1 H, ClCH<sub>2</sub>CH), 4.15-4.11 (dd, 1 H, J = 3.5, 11.1 Hz, ClCHH), 3.98-3.93 (dd, 1 H, J = 7.9, 11.2 Hz, ClCHH), 3.63-3.57 (q, 2 H, J = 6.1, 11.4 Hz, CH<sub>2</sub>OH), 2.51-2.47 (t, 2 H, J = 7.5 Hz, COCH<sub>2</sub>), 1.91-1.87 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>).

## 実施例 14

3 - [ ( 5 - アミノ - 1 H - インドール - 2' - イル ) カルボニル ] - 1 - ( クロロメチル ) - 5 - ヒドロキシ - 1, 2 - ジヒドロ - 3 H - ベンズ [ e ] インドール ( Y W - 2 4 2 ) .

5 - ニトロインドール - 2 - カルボン酸エチル ( E a s t m a n C h e m i c a l C o . ) を塩基性 ( N a O H ) 加水分解した後、HClを用いて中和して得た5 - ニトロインドール - 2 - カルボン酸 ( 1 8 m g 、 8 7 m m o l ) を41に結合した。反応混合物を一晩室温で攪拌し、酢酸エチル中50%のヘキサン

を用いて薄膜クロマトグラフィー溶出によって精製し、結合生成物を得た。さらなるキャラクタリゼーションすることなく、後者をDMF ( 0 . 5 m L ) に溶解させた。酢酸エチル ( 5 m L ) をこの溶液に加え、次いで、10%のPd/C ( 1 0 m g ) を加え、反応混合物を1気圧の周囲温度で1時間水素化した。生成物を濾過し、濾過ケーキをメタノール ( 2 0 m L ) で洗浄した。真空中で溶媒を除去し、エーテルを加えた。固体を濾過および洗浄し、Y W - 2 4 2 ( 1 3 m g 、 収率44% ) を得た。m p > 3 0 0 ° C .

<sup>1</sup>H NMR (DMF-d<sub>7</sub>, ppm): 11.16 (brs, 1, NH), 10.46 (s, 1, OH), 8.24-6.81 (m, 9, Ar-H), 4.84-4.79 (dd, 1, J = 9.3, 11.1z, NHH), 4.71-4.67 (m, 3, NCHH, NH<sub>2</sub>), 4.31-4.21 (m, 1, CH<sub>2</sub>ClCH<sub>2</sub>N), 4.18-4.12 (dd, 1, J = 1.0, 18.7z, ClCHH), 3.93-3.88 (dd, 1, J = 7.9, 11.2z, ClCHH).

## 実施例 15

3 - [ [ 5 - ( ビオチン - アミノ ) - 1 H - インドール - 2' - イル ] カルボニル ] - 1 - ( クロロメチル ) - 5 - ヒドロキシ - 1, 2 - ジヒドロ - 3 H - ベンズ [ e ] インドール ( YW - 235 )。

N - ヒドロキシスクシンイミドビオチン ( 5.2 mg, 15.3 mmol ) を DMF ( 0.2 mL ) 中の YW - 242 ( 2 mg, 5.1 mmol ) の溶液に加え、溶液を周囲温度で 48 時間攪拌した。酢酸エチルおよびメタノール ( 4 / 1, v / v ) を用いて薄膜クロマトグラフィー溶出により生成物を精製し、灰色の固体として YW - 235 ( 1.5 mg, 48 % ) を得た。

$^1\text{H}$  NMR (DMF-d<sub>7</sub>, ppm): 11.56 (brs, 1 H, NH), 10.55 (s, 1 H, OH), 9.91 (s, 1 H, NH), 8.25-7.21 (m, 9 H, Ar-H), 6.32 (s, 1 H, ビオチン NH), 6.24 (s, 1 H, ビオチン NH), 4.90-4.85 (t, 1 H, J = 11.0 Hz, NHH), 4.74-4.70 (dd, 1 H, J = 2.0, 11.0 Hz, NHH), 4.49-4.45 (m, 1 H, biotin H), 4.32-4.28 (m, 2 H, ClCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>, biotin H), 4.14-4.10 (dd, 1 H, J = 3.6, 11.1 Hz, CHHCl), 3.96-3.91 (dd, 1 H, J = 7.8, 11.1 Hz, CHHCl), 3.20-3.27 (m, 1 H, ビオチン H), 2.45-2.41 (t, 2 H, J = 7.7 Hz, COCH<sub>2</sub>), 1.8-1.5 (m, 6 H, CO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>).

## 実施例 16

セファロチン - YW - 242 プロドラッグ ( YW - 285 )。

DMF ( 0.3 mL ) 中の YW - 242 ( 9 mg ) を、報告されている手法 ( 図 10、Rodrigues ら、Cancer Res. 1995、55:63 ) に従って合成した t - ブチル - 7 b - ( 2 - ( チエン - 2 - イル ) アセトアミド ) - 3 - [ [ [ 4 - ニトロフェノキシ ) カルボニル ] オキシ ] メチル ] - 3 - セフェム - 4 - カルボキシレート 1 - スルホキシド ( 15 mg ) で処理し、反応混合物を室温で一晩攪拌した。酢酸エチルおよびヘキサン ( 3 / 1, v / v ) を溶出液として用いて、薄膜クロマトグラフィーにより混合物を精製し、12 mg の生成物を得た。5 mg の後者の生成物を DMF ( 0.2 mL ) およびジクロロメタン ( 1 mL ) に溶解し、続いてトリフルオロ酢酸 ( 1 mL ) を加えた。反

応物を室温で 2 時間攪拌した。真空下で溶媒を除去し、エーテルを加えた。固体

を濾過し、エーテルで洗浄し、YW-285 (3.7 mg) を得た。

$^1\text{H}$  NMR (DMF- $d_7$ , ppm): 11.63 (s, 1H), 11.56 (s, 1H), 11.50 (brs, 1H), 8.28-8.23 (m, 1H), 8.17-8.12 (m, 1H), 8.07-8.01 (m, 1H, DMFに部分的に不明瞭), 7.94-7.91 (d, 1H,  $J = 8.5$  Hz), 7.58-7.52 (m, 2H), 7.46-7.38 (m, 3H), 7.24 (s, 1H), 7.05-6.99 (m, 2H), 6.07-6.03 (dd, 1H,  $J = 4.8, 9.0$  Hz), 5.40-5.37 (d, 1H,  $J = 13.2$  Hz), 5.08-5.06 (d, 1H,  $J = 4.4$  Hz), 4.90-4.0 (m, 1H), 4.74-4.70 (d, 1H,  $J = 13$  Hz), 4.35-4.27 (m, 1H), 4.19-3.75 (m, 6H).

#### 実施例 17

1, 2, 9, 9a-2-[5-[ (1H-ベンゾフラン-2-イルカルボニル) アミノ] -1H-インドール-2-イル] カルボニル] テトラヒドロシクロプロパ [c] -ベンズ [e] インドール-4-オン (YW-211)。

YW-199 (10 mg) を DMF (0.5 mL) およびトリエチルアミン (0.5 mL) に溶解し、水 (0.5 mL) およびアセトニトリル (0.5 mL) を連続して加えた。反応混合物を室温で30分間攪拌した。真空下で溶媒を除去し、生成物を水で洗浄した。エーテルを加え、固体を濾過し、エーテルで洗浄し、YW-211 (7 mg) を得た。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , ppm): 11.71 (s, 1H, NH), 10.32 (s, 1H, NH), 8.21-6.88 (m, 14H, Ar-H), 4.66-4.62 (dd, 1H,  $J = 4.6, 10.0$  Hz, NHH), 4.52-4.49 (d, 1H,  $J = 10.2$  Hz, NHH), 3.05-2.95 (m, 1H), 1.79-1.75 (dd, 1H,  $J = 4.4, 7.9$  Hz), 1.72-1.70 (t, 1H,  $J = 4.8$  Hz)。

#### 実施例 18

1, 2, 9, 9a-2-[5-[ [5-(アセトアミノ) -1H-ベンゾフラン-2-イルカルボニル] アミノ] -1H-インドール-2-イル] カルボニル] ] テトラヒドロシクロプロパ [c] -ベンズ [e] インドール-4-オン (YW-213)。

YW-201を用いたこと以外はYW-211について記載したのと同様の手法を用いてYW-213を合成し、灰色の固体 (収率85%) を得た。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , ppm): 11.77 (s, 1 H, NH), 11.45 (s, 1 H, NH), 10.28 (s, 1 H, NH), 8.21-6.96 (m, 13 H, Ar-H), 4.66-4.61 (dd, 1 H,  $J = 4.6, 10.0$  Hz, NHH), 4.52-4.49 (d, 1 H,  $J = 10.3$  Hz, NHH), 3.05-2.95 (m, 1 H), 2.08 (s, 3 H), 1.77-1.73 (dd, 1H,  $J = 4.4, 7.9$  Hz), 1.72-1.70 (t, 1H,  $J = 4.8$  Hz).

#### 実施例 19

3 - [ ( 4 - アミノ - 1 - メチルピロール - 2 - イル ) カルボニル ] - 1 - ( クロロメチル ) - 5 - ヒドロキシ - 1 , 2 - ジヒドロ - 3 H - ベンズ [ e ] インドール ( YW - 284 ) .

1 - メチル - 5 - ニトロピロール - 2 - カルボン酸を用いたこと以外は、YW - 198 について記載したのと同様の手法を用いて YW - 286 ( 収率 85 % ) を合成した。YW - 286 ( 20 mg ) を DMF ( 0.5 mL ) に溶解した。酢酸エチル ( 5 mL ) を溶液に加え、次いで 10 % の Pd / C ( 10 mg ) を加え、反応混合物を 1 気圧の周囲温度で 1 時間水素化した。生成物を濾過し、濾過ケーキをメタノール ( 20 mL ) で洗浄した。真空下で溶媒を除去しエーテルを加えた。固体を濾過および洗浄し、YW - 284 ( 15 mg ) を得た。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , ppm): 10.26 (s, 1 H, OH), 8.10-6.17 (m, 7 H, Ar-H), 4.51-4.41 (dd, 1 H,  $J = 8.5, 11.6$  Hz, NHH), 4.33-4.30 (d, 1 H,  $J = 9.9$  Hz, NCHH), 4.02-3.93 (m, 3 H,  $\text{CH}_2\text{ClCHCH}_2\text{N}$ , ClCHH), 3.76-3.66 (m, 4 H, ClCHH,  $\text{CH}_3$ ).

#### 実施例 20

3 - [ ( 4 - アセトアミノ - 1 - メチルピロール - 2 - イル ) カルボニル ] - 1 - ( クロロメチル ) - 5 - ヒドロキシ - 1 , 2 - ジヒドロ - 3 H - ベンズ [ e ] インドール ( YW - 161 ) .

5 - アセトアミノ - 1 - メチルピロール - 2 - カルボン酸を用いたこと以外は YW - 198 について記載したのと同様の手法を用いて YW - 161 ( 収率 25 % ) を合成した。



$^1\text{H}$  NMR (DMF-d<sub>7</sub>, ppm): 10.49 (s, 1 H, OH), 9.88 (s, 1 H, NH), 8.23-6.64 (m, 7 H, Ar-H), 4.58-4.52 (dd, 1 H, J = 8.5, 11.6 Hz, NHH), 4.47-4.30 (d, 1 H, J = 9.9 Hz, NCHH), 4.15-4.03 (m, 3 H, CH<sub>2</sub>ClCHCH<sub>2</sub>N, ClCHH), 3.88-3.80 (m, 4 H, ClCHH, CH<sub>3</sub>), 2.04 (s, 3 H, COCH<sub>3</sub>).

#### 実施例 2 1

3 - (4 - ブチルアミド - 1 - メチル - 2 - ピロールアクリロイルカルボニル) - 1 - (クロロメチル) - 5 - ヒドロキシ - 1, 2 - ジヒドロ - 3 H - ベンズ [e] インドール (YW - 2 2 2)。

4 - ブチルアミド - N - メチル - 2 - ピロールアクリル酸を用いたこと以外は、YW - 1 9 8 について記載したのと同様の手法を用いて YW - 2 2 2 (収率 20 %) を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMF-d<sub>7</sub>, ppm): 10.46 (s, 1 H, OH), 9.77 (s, 1 H, NH), 8.22-6.81 (m, 9 H, Ar-H, CH=CH), 4.54-4.51 (m, 2 H, NCH<sub>2</sub>), 4.28-4.20 (brs, 1 H, CH<sub>2</sub>ClCHCH<sub>2</sub>N), 4.10-4.06 (dd, 1 H, J = 3.4, 11.2 Hz, ClCHH), 3.91-3.85 (dd, 1 H, J = 8.6, 11.1 Hz, ClCHH), 3.79 (s, 3 H, NCH<sub>3</sub>), 2.31-2.27 (t, 2 H, J = 14.6 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.69-1.63 (m, 2 H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 0.95-0.91 (t, 3 H, J = 14.6 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>).

#### 実施例 22

##### ガン細胞に対する細胞傷害性

新規の化合物のいくつかを、ガン細胞に対するその細胞傷害性について試験した。U937細胞を用いて、IC<sub>50</sub>値を決定した。アッセイを96ウェル平底マイクロタイタープレート中に3連でセットアップした。全ての細胞を、RPMI-1640+10% FCS中に5 × 10<sup>3</sup>細胞/ウェルで播種する。薬物を添加し、そして全容量を0.2mL/ウェルに調整した。全インキュベーション時間は、48時間であり、最後の24時間のインキュベーションは<sup>3</sup>Hチミジンを添加して行った。アッセイを収集し、そしてパッカードMatrix 96βカウンターで計数した。結果を、未処理コントロールと比較して処理細胞のcpmでのパーセント減少から計算した増殖阻害パーセントとして表した。

結果を、図9に示す。

## 実施例 23

## YW-242-モノクローナル抗体結合体の合成

YW-242は、DNAの副溝に結合することによってその抗腫瘍活性を発揮する。それゆえ、薬物は、細胞に侵入した後にMab薬物結合体から放出されなければならない。ジスルフィド結合は、この要求を満たし、そしてYW-242およびMab 3A5を連結するために使用される(図11)。

a). Mabのチオール化。Mab 3A5を、報告された手順にしたがって作製した(Liら、Acta Pharmaceutica Sinica 1993, 28:260)。エタノール (50  $\mu$  L) 中の3-(2-ピリジルジチオ)プロピオン酸N-ヒドロキシスクシンイミドエステル (SPDP, 0.152mg) を、PBS (2mL) 中のMab 3A5 (2mg) に添加し、そして反応混合物を、30分間37℃でインキュベートした。混合物を0℃に冷却し、次いでジチオスレイトール (50  $\mu$  L のPBS中0.45mg) で15分間4℃で処理した。チオール化Mabを、ゲル濾過クロマトグラフィー (Sephadex-G 25) により分離した。

b). YW-242のチオール化。YW-242 (83  $\mu$  L のDMF中0.5mg) を、SPDP (5.3mg、1モル、YW-242に等価、0.263mLのエタノール中) に添加し、そして反応混合物を30分間37℃でインキュベートした。生成物をさらなる精製なしに使用した。

c). Mabおよび薬物の結合体。チオール化YW-242を、PBS中のチオール化Mabに添加し、そして反応混合物を4℃で一晩反応させた。次いで、反応混合物を、PBS (1000mL) 中で6時間 (PBSを2時間毎に交換した) 透析した。Mabに結合した薬物の量を、UV吸収により分析し、そして濃度を計算した。Mab当たりの結合した薬物分子の数は、2.7である。

## 実施例 24

肝ガンHepG2細胞に対するYW-242-モノクローナル抗体結合体の細胞傷害性研究

結合体をヒト肝ガンHepG2細胞に対してインビトロで試験した。細胞増殖についてのIC<sub>50</sub>値を<sup>3</sup>Hチミジンの取り込みによって決定した。10%の熱不活性化FCSを含有する0.1mLのDMEM培地中の4×10<sup>4</sup>個のトリプシン処理した細胞を、96ウェルマイクロタイタープレートの各ウェルに添加し、そして4時間37℃でインキュベートして、細胞の接着を可能にした。10  $\mu$  L のPBS中の薬物を、1時間37℃で

インキュベートした。培地を除去し、そして細胞をPBS (0.2mL) で洗浄した。新鮮な培地 (0.1mL) および<sup>3</sup>Hチミジン (10 $\mu$ L) を添加した。細胞を37℃で一晩インキュベートした。細胞を、トリプシンEDTAで15分間37℃で処理し、次いで、ミクロメイト (micromate) 196収集器を用いて収集した。放射能を計数し、IC<sub>50</sub>値を決定した。結果を表3に示す。

免疫結合体Mab-YW-242は、遊離の薬物YW-242よりも2.5倍毒性が低い。この減少した細胞傷害性は、予想される。なぜなら、Mab薬物結合体は、通常この種のアッセイにおいて遊離の薬物よりも毒性が低いからである。これらの結果は、Mab薬物結合体が細胞に結合し、そして遊離の薬物が細胞内で放出されることを示す。Mab薬物結合体は、ドキソルビシンよりも10倍を超えてより強力である。

上記の発明は、例示および実施例によって、明確性および理解のために、ある程度詳細に記載された。当業者には、変化および改変が添付の請求の範囲内で実施され得ることが明らかである。それゆえ、上記が、例示のためであり、限定的でないことが理解される。本発明の範囲は、それゆえ上記の説明を参照してではなく、以下の添付の請求の範囲を参照して、このような請求の範囲に与えられる等価物の全範囲とともに、決定される。

全ての特許、特許出願、および本願に引用される出版物は、各々の特許、特許出願、または出版物がそのように個々に示されるのと同じ程度まで、全ての目的のために本明細書中で参考としてその全体が援用される。

【 図 1 】

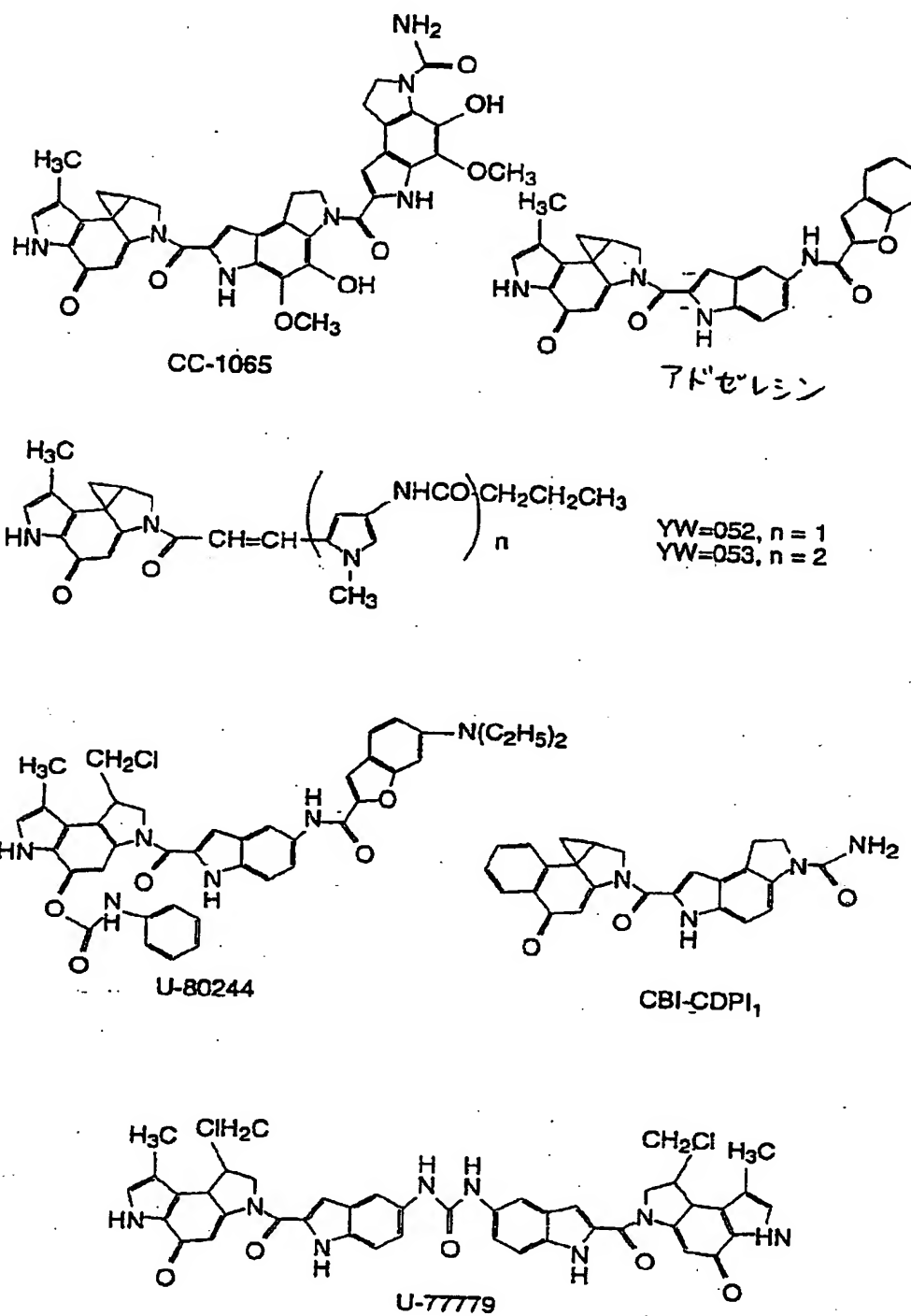
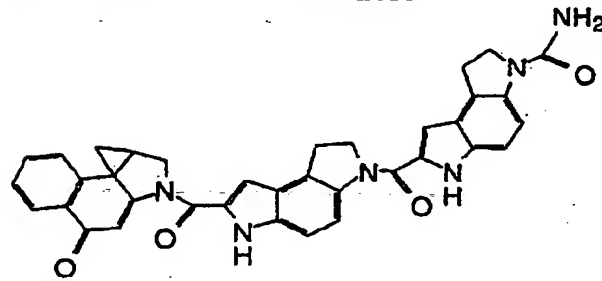
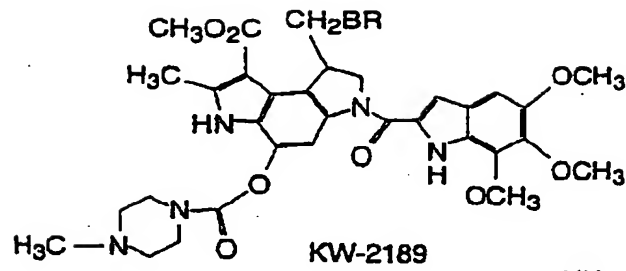
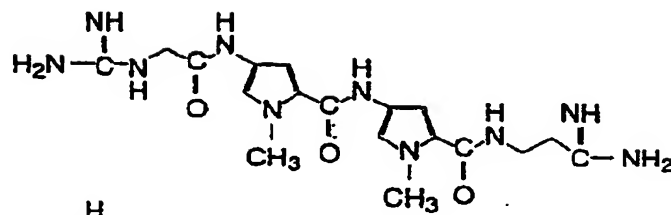


FIG. 1

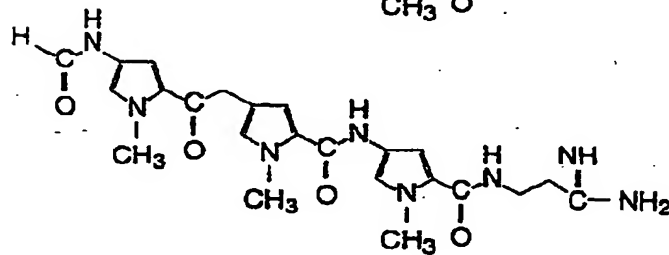
【 図 1 】

CBI-CDPI<sub>2</sub>FIG. 1  
( 続き )

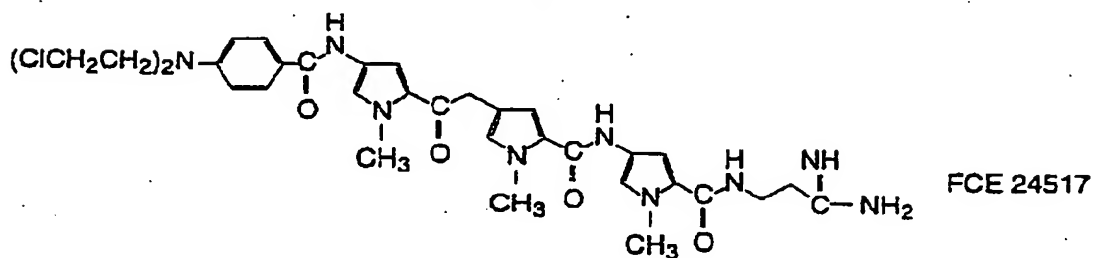
【 図 2 】



ネトロプシン



ジスタマイシン



FCE 24517

FIG. 2

【 図 3 】

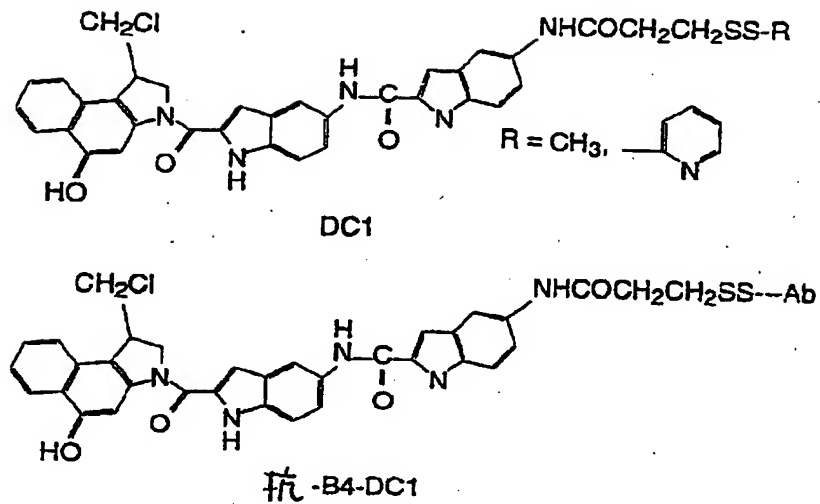


FIG. 3

【 図 4 】

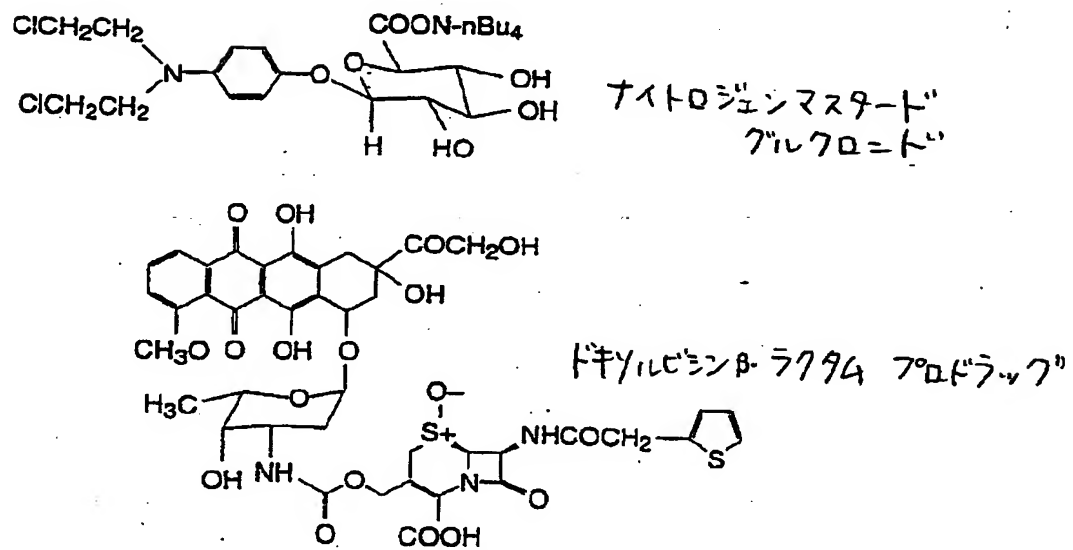


FIG. 4

【 図 5 】

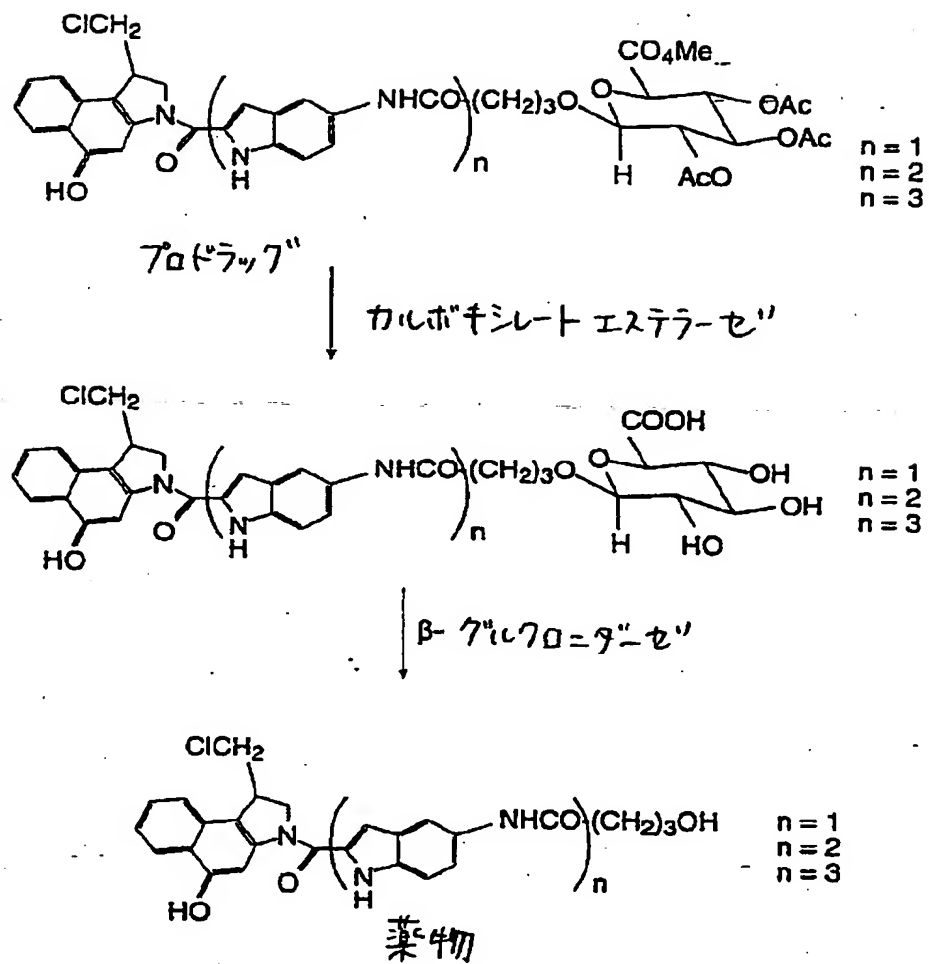


FIG. 5

【 図 6 】

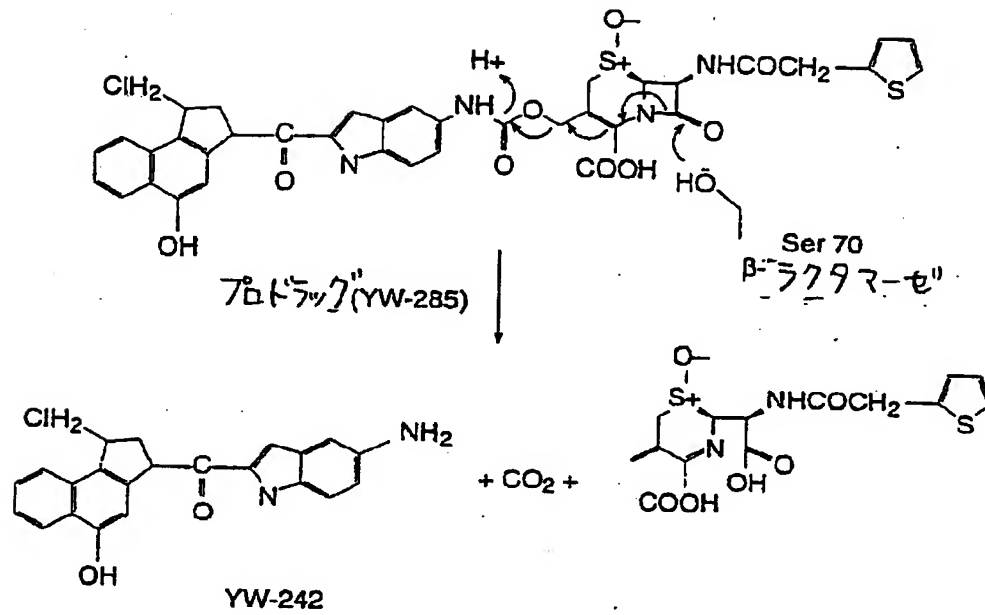


FIG. 6

【 図 7 】

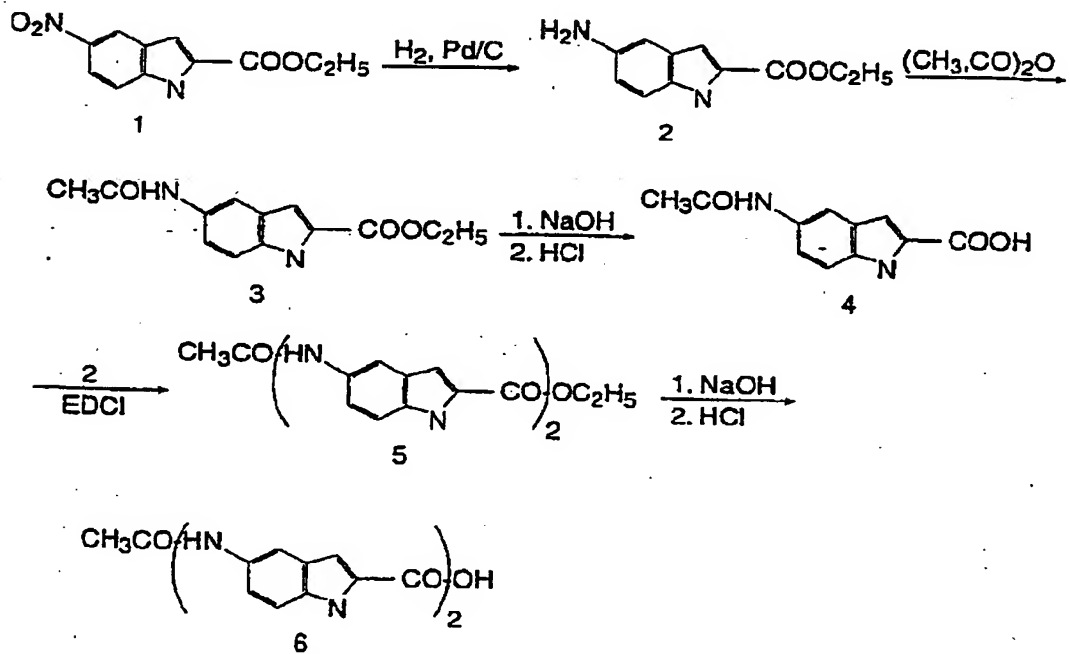
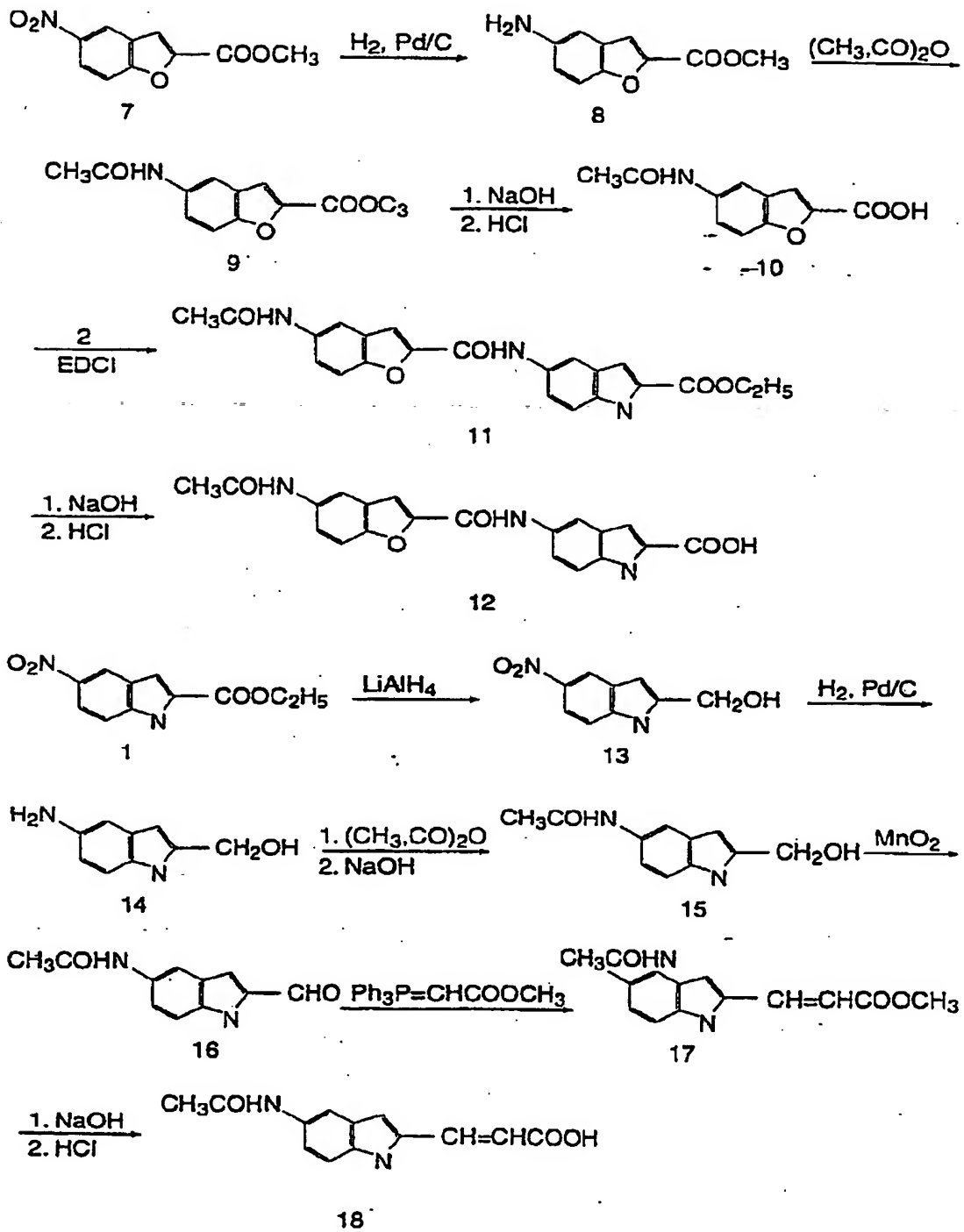


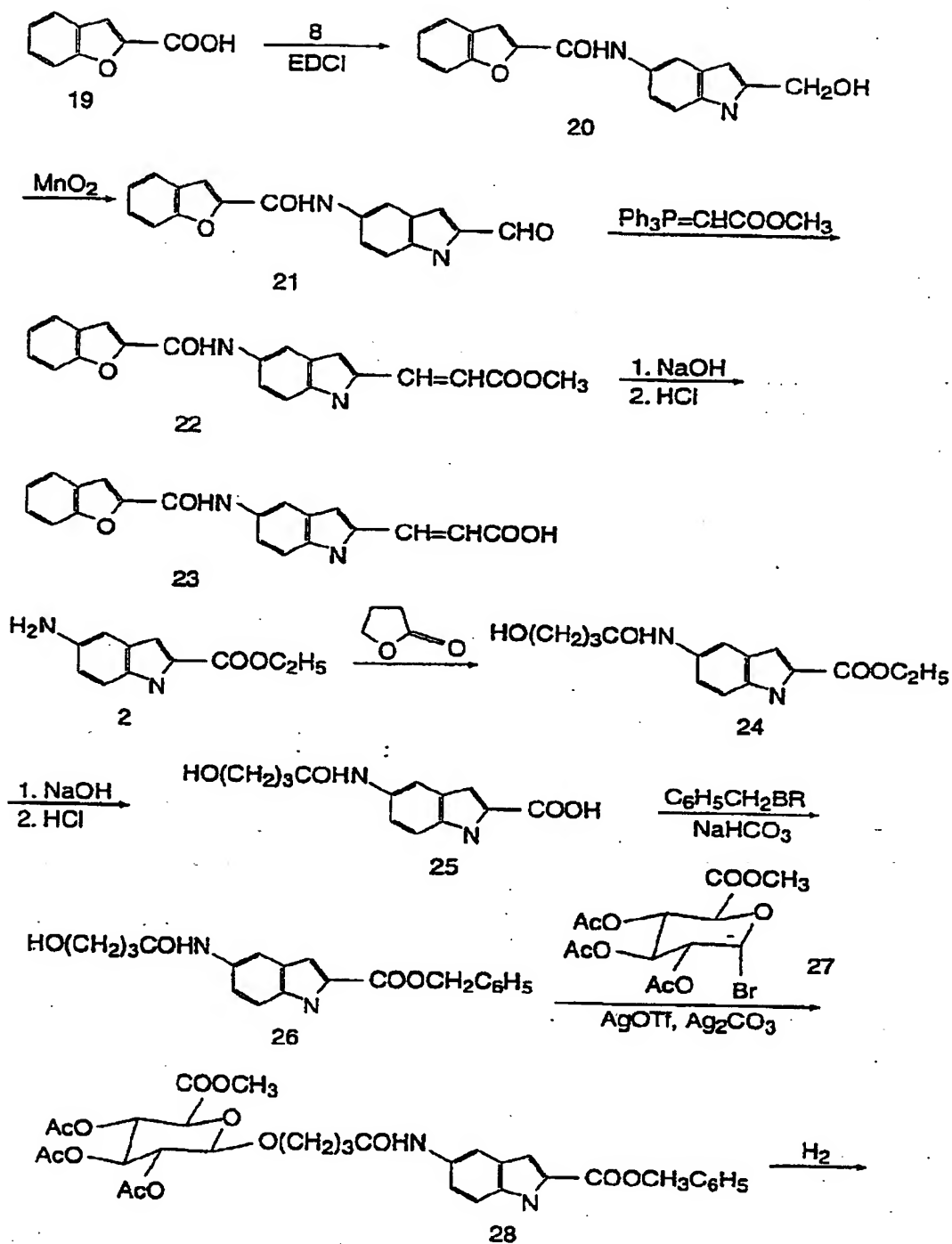
FIG. 7



【 図 7 】


 FIG. 7  
 ( 図 7 )

【 図 7 】


 FIG. 7  
 ( 続き )

【 図 7 】

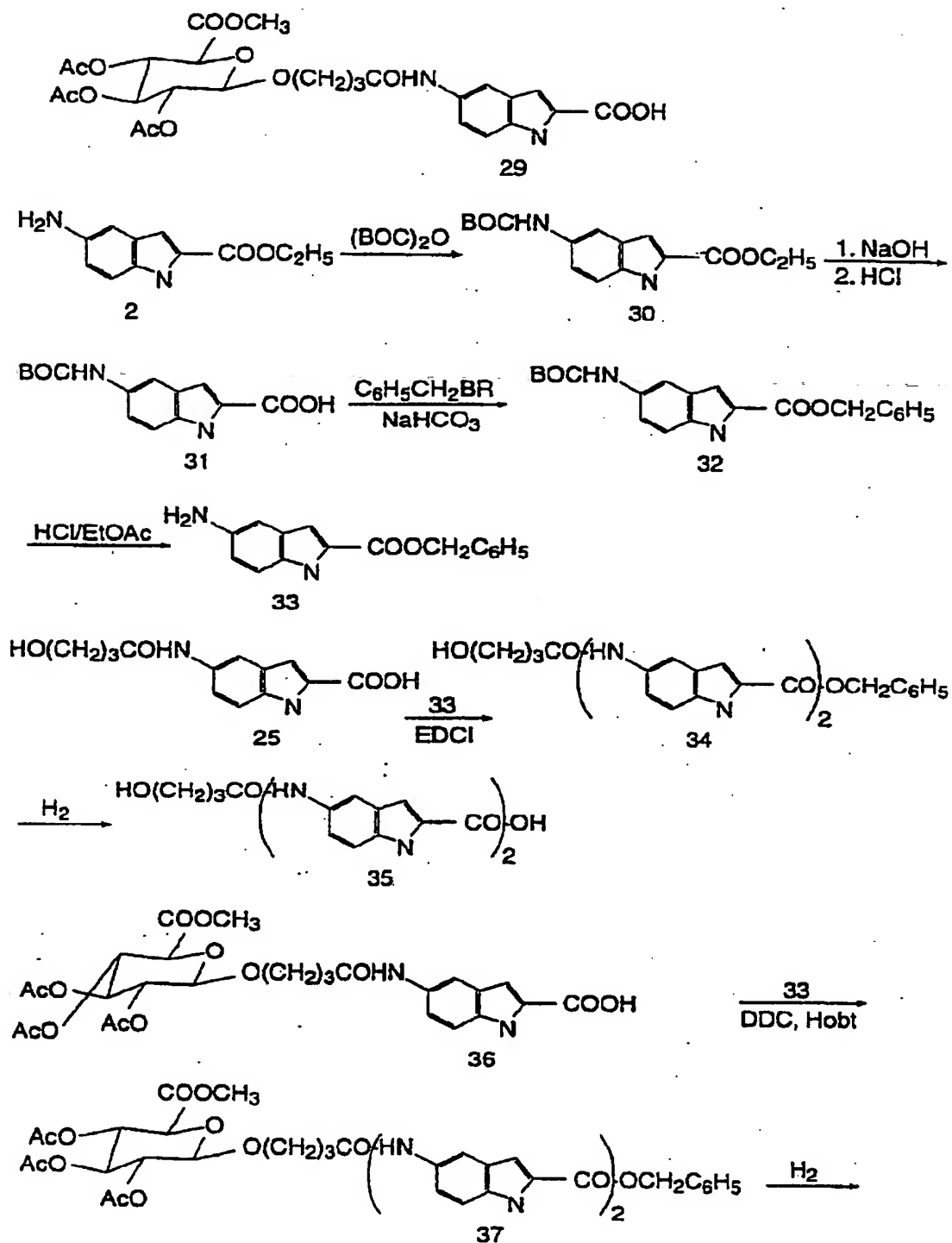


FIG. 7

(" 続き ")

【 図 7 】

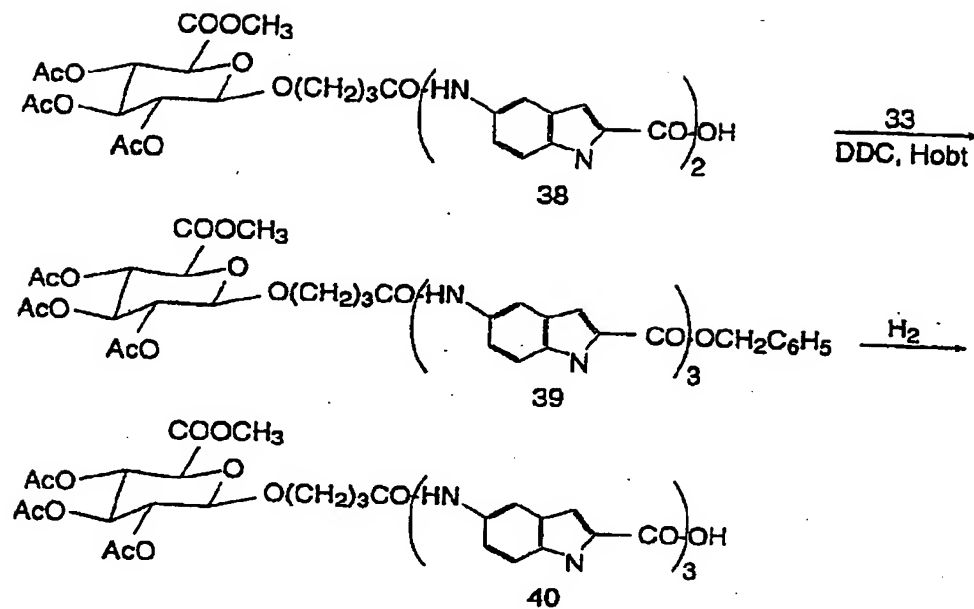


FIG. 7

( 続き )

【 図 8 】

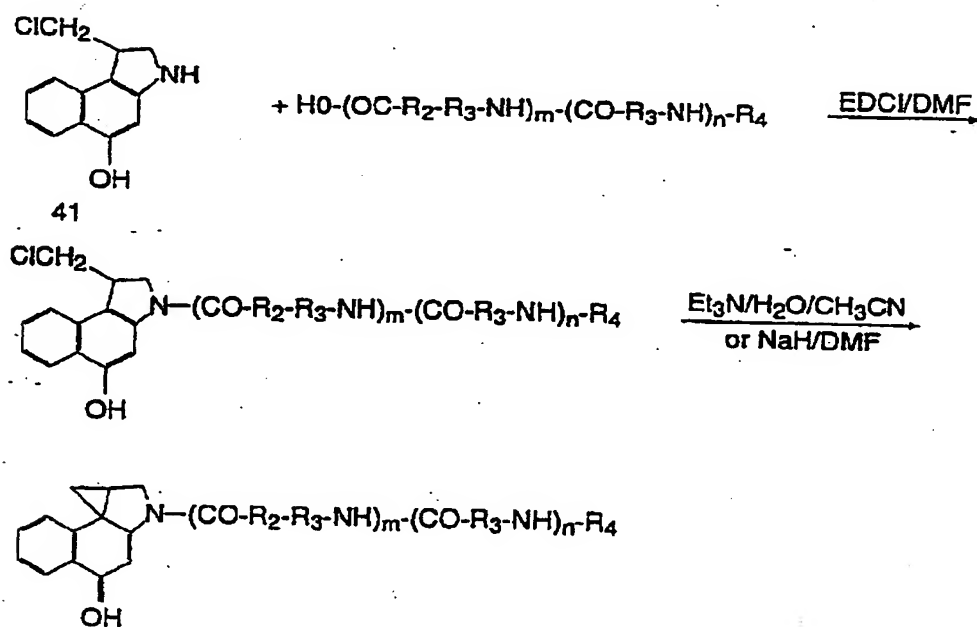
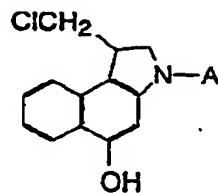


FIG. 8

【 図 9 】



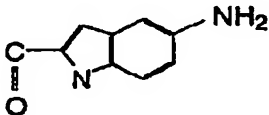
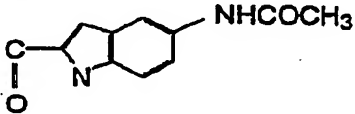
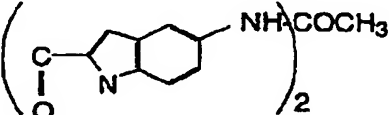
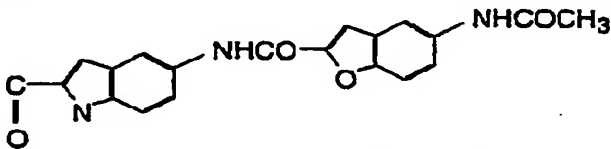
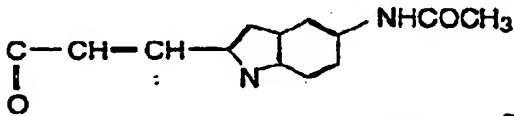
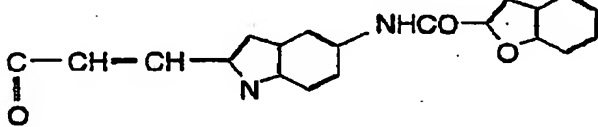
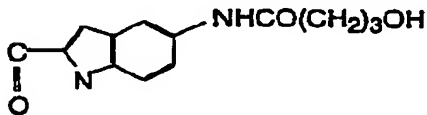
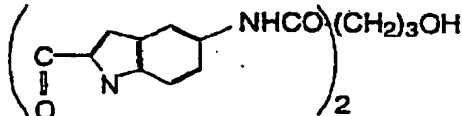
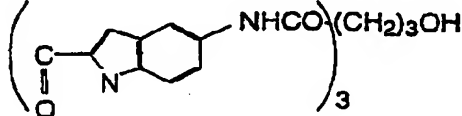
化合物	$IC_{50}$ (nM)
YW-242, A = 	0.09
YW-198, A = 	0.2
YW-200, A = 	0.01
YW-201, A = 	0.07
YW-202, A = 	0.2
YW-215, A = 	0.09
YW-231, A = 	0.6
YW-254, A = 	0.1
YW-259, A = 	0.08

FIG. 9

IC<sub>50</sub> (nM)

FIG. 9  
系統支

FIG. 9  
系統支

【 図 9 】

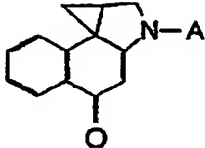
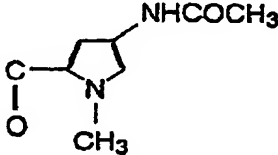
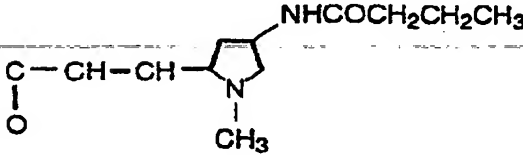
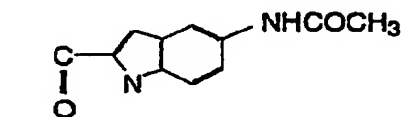
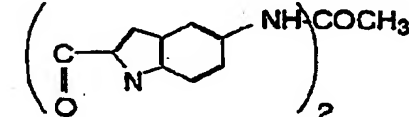
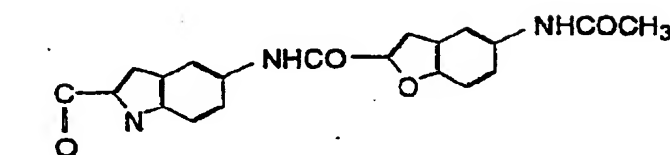
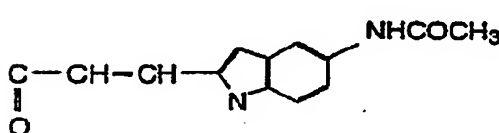
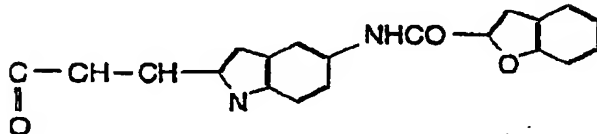
化合物	$IC_{50}$ (nM)
 YW-161, A = 	5.0
YW-222, A = 	0.5
YW-210, A = 	0.3
YW-212, A = 	0.05
YW-213, A = 	0.2
YW-214, A = 	0.6
YW-216, A = 	0.09
Doxorubicin	0.10

 FIG. 9  
 系統

【 図 1 0 】

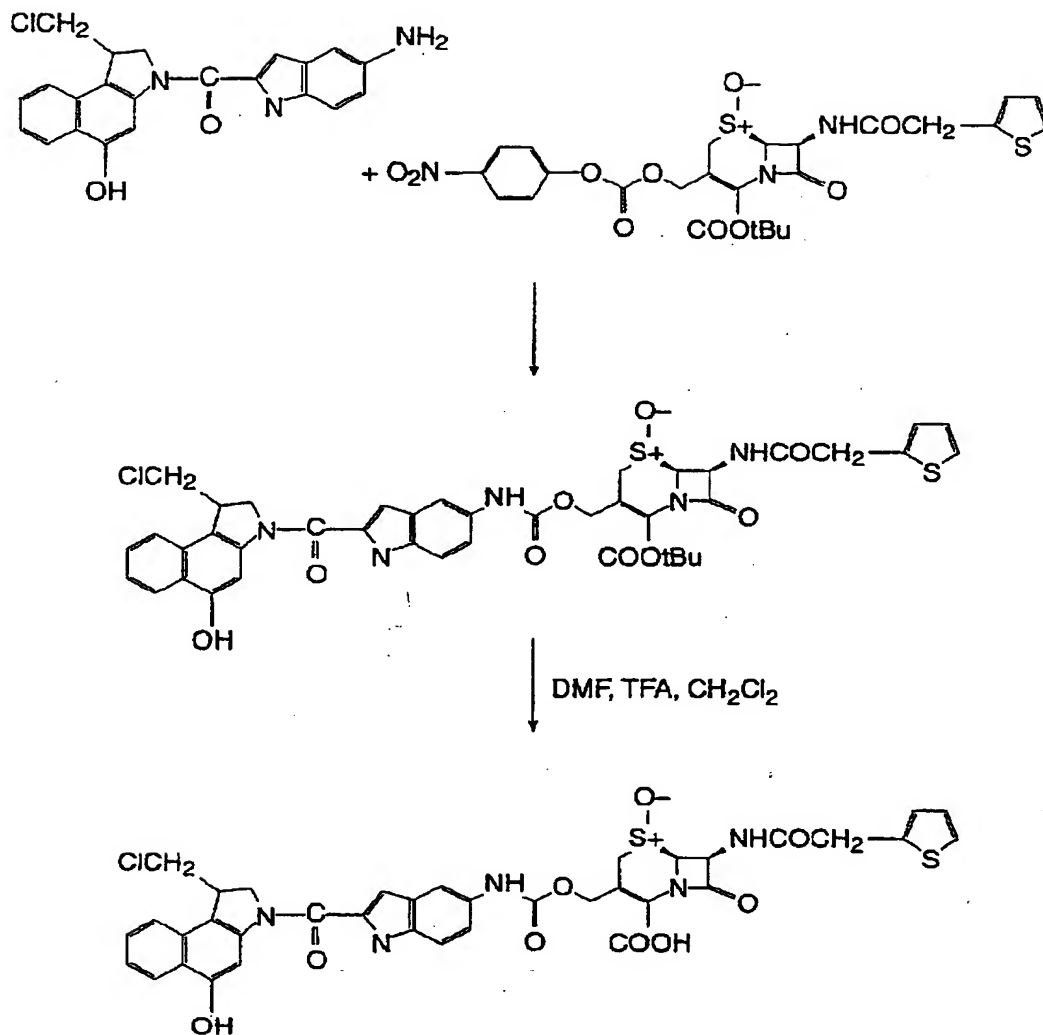


FIG. 10



【 図 1 1 】

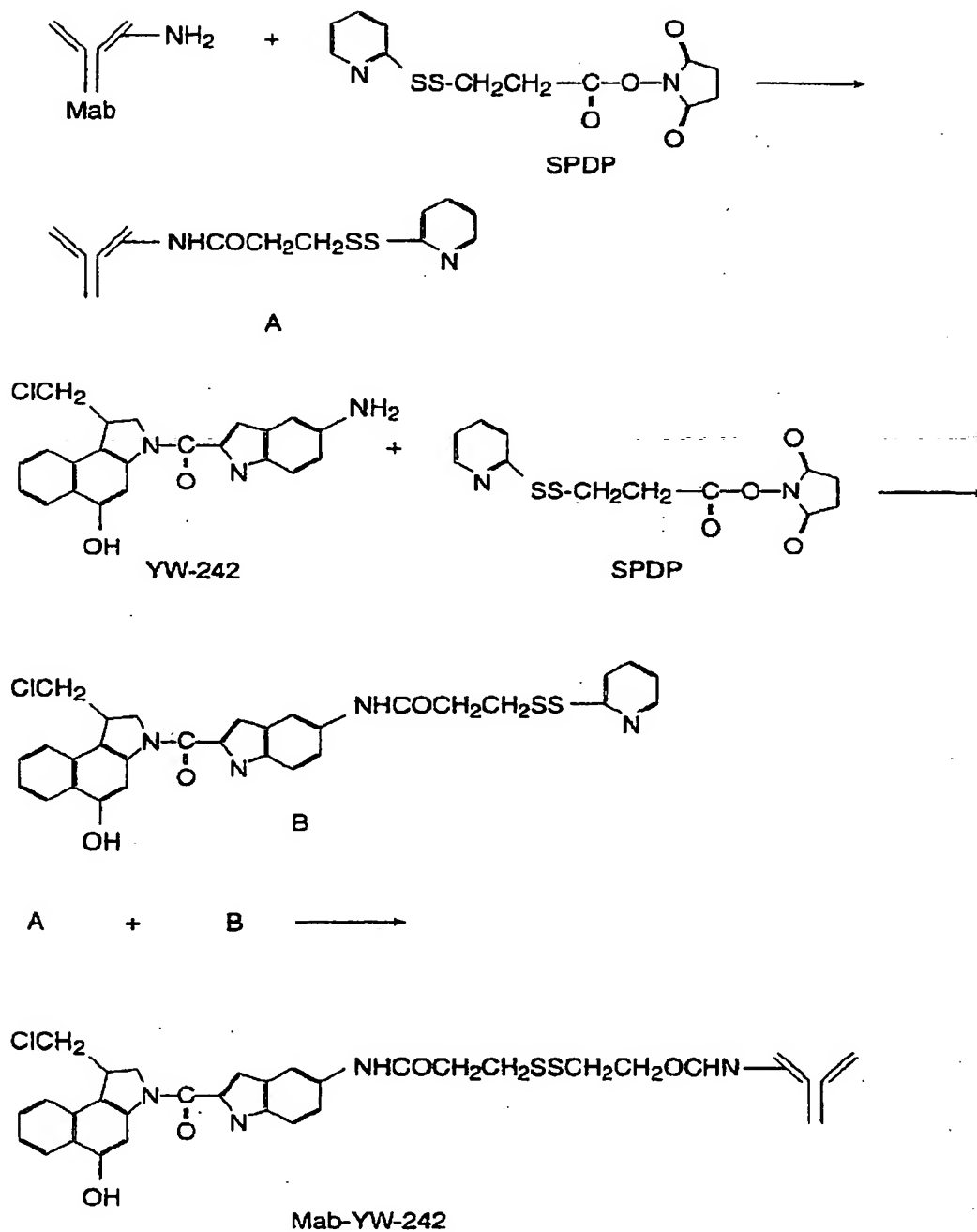


FIG. 11

## [ 国際調査報告 ]

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US97/09055

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(6) : A01N 43/38; A61K 31/40; C07D 209/56, 487/02  
US CL : 548/424, 425, 427, 433; 514/411

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

U.S. : 548/424, 425, 427, 433; 514/411

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

APS, MEDLINE, CAPLUS, REGISTRY

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BOGER et al. 1,2,9,9a-Tetracyclopropa(c)benz(e)indol-4-one(CBI) Analogs of CC-1065 and the Duocarmycins: Synthesis and Evaluation. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 1995, Vol.3, pages 1429-1453.	1-35, 43-54, 56-60
X	ARISTOFF, PAUL.A. CC-1065 ANALOGS: Sequence Specific DNA-Alkylating Antitumor Antigens. Advances In Medicinal Chemistry. 1993, Vol.2, pages 67-110.	50-53

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" documents defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"I" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"A" document member of the same patent family
"O" documents referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search

30 JULY 1997

Date of mailing of the international search report

14 NOV 1997

Name and mailing address of the ISA/US  
Commissioner of Patents and Trademarks  
Box PCT  
Washington, D.C. 20231

Facsimile No. (703) 305-3230

Authorized officer

PADMASHRI KUMAR

Telephone No. (703) 308-0196

Form PCT/ISA/210 (second sheet)(July 1992)\*

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US97/09055

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Please See Extra Sheet.

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:  
1-35, 43-54, 56-60

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US97/09055

**BOX II. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION WAS LACKING**

This ISA found multiple inventions as follows:

Group 1, claims 1-35, 49-54, 56-60 drawn to a compound, a method of controlling the growth of tumor by administering a compound of claim 1, a method of making a compound and pharmaceutical composition.

Group 11, claims 36-42, drawn to a compound, which differs from the group 1 compound by having additional linker and antibody linked.

Group 111, claim 55, drawn to a method of treating bacterial disease.

The inventions listed as Groups 1, 11, and 111 do not relate to a single inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: group 111 inventions are drawn to different methods and these methods can be practiced with different compounds other than the compounds claimed in groups 1-11. Group 11 compound has an antibody linked to the compound as a technical feature and group 1 does not have the special technical feature of group 11.

## フロントページの続き

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	ターマコード (参考)
A 6 1 K 31/546		A 6 1 K 31/545	6 0 1
31/7056		31/70	6 1 5
C 0 7 D 403/14		C 0 7 D 403/14	
405/14		405/14	
487/04	1 3 7	487/04	1 3 7
495/04	1 0 3	495/04	1 0 3
501/34		501/34	
C 0 7 H 15/04		C 0 7 H 15/04	F
// C 0 7 K 16/30		C 0 7 K 16/30	
C 1 2 P 21/08		C 1 2 P 21/08	

(81) 指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, UZ, VN, YU

(72) 発明者 ライト, スーザン シー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 95070,  
サラトガ, ウィリアムス アベニュー  
20430

(72) 発明者 ラリック, ジェムス ダブリュー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 94062,  
ウッドサイド, スター ルート ボックス  
48 (番地なし)

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**